

UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
ÉCOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTÉ ET DE
L'ENVIRONNEMENT
FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : **2013** N° d'ordre : **40**



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Entomologie

Présentée par :

Assane Guèye FALL

**Ecologie des arbovirus au Sénégal : exemple du virus de la
fièvre West Nile dans le Delta du fleuve Sénégal et le Ferlo**

Soutenue le 06 avril 2013 devant le jury composé de :

Président :	Mady Ndiaye, Professeur, FST/UCAD, Dakar
Rapporteurs :	Mawlouth Diallo, Chercheur, Institut Pasteur de Dakar Thierry Baldet, Chercheur, CIRAD, Montpellier Babacar Faye, Professeur Agrégé, FMPOS/UCAD
Examineur :	Momar Talla Seck, Chercheur, ISRA/LNERV, Dakar
Directeur de thèse :	Ousmane Faye, Professeur, FST/UCAD, Dakar
Co-directeur de thèse :	Amadou Diaïté, Chercheur, ISRA/LNERV, Dakar

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu Amadou Diaïté qui m'a initié à la recherche et m'a encadré. Il m'a aussi transmis son expérience, donné les conseils nécessaires et partagé avec moi le terrain pour l'achèvement de mon travail. Veuillez croire en l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mes chaleureux remerciements à mon Directeur de thèse, Pr Ousmane Faye, qui a spontanément accepté de diriger mes travaux. Veuillez trouver ici le témoignage de notre très grand respect et de toute ma sympathie.

Je tiens à remercier tous les membres du jury, qui ont contribué à l'évaluation de ce travail : Mawlouth Diallo, Thierry Baldet et Babacar Faye qui ont accepté de consacrer du temps à rapporter cette thèse ; Momar Talla Seck qui m'a montré tout l'intérêt qu'il portait à ma problématique en faisant partie du jury et m'a encouragé.

Grand merci à Jérémy Bouyer qui m'a beaucoup aidé dans l'analyse des résultats, dans la correction du document de thèse et dans la recherche d'opportunités pour réaliser certains tests. Je tiens à remercier chaleureusement Renaud Lancelot qui a toujours répondu présent chaque fois que de besoin et pour son implication dans les analyses et pour son soutien moral. Veuillez trouvez tous les deux ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Mention spéciale à Lassana Konaté qui a cru très tôt à mon projet de thèse et m'a poussé dans mes efforts.

Merci à Yaya Thiongane, Chef du Laboratoire Nationale de l'Elevage et de Recherches Vétérinaires de l'ISRA qui m'a soutenu dans mes efforts et mes activités de recherches. Merci Chef.

Merci aux anciens du LNERV particulièrement à Oumar Talla Diaw, Arona Gueye, Dane Sèye, Magatte Ndiaye, Ablaye Diouf, Youssou Sarr, qui m'ont toujours conseillés et guidés dans mes recherches.

Merci à toute l'équipe du Programme Santé Animale du LNERV pour leur collaboration et leur soutien moral.

Merci à toute l'équipe du Service de Bio-Ecologie et Pathologies Parasitaires : ThianéDièye, Saliou Niang, Cheikh Tidiane Diop, Mamadou Lamine Djiba, Maryam Diarra, Moussa Fall, Ousmane Top, Mme Traoré, Idrissa Sarr, Iba Mall qui ont éclairé mes journées de travail par leurs sourires et leur bonne humeur.

Nos pensées et prières vont à l'endroit de Safiétou Touré Fall, ancienne chef du LNERV, qui m'a accueilli et beaucoup soutenu. Que le tout puissant vous accueille dans son paradis.

Un grand merci aux populations de Ross-Béthio et de Barkedji pour la *Teranga*, particulièrement à Thomas Manga et Abdou Fall, tous deux agents techniques d'élevage qui ont facilités nos travaux de terrain.

Merci aux Services Administratifs et Financiers du LNERV pour leurs appuis dans la gestion des dossiers urgents.

Mention spéciale au doyen Aly Ndiaye, responsable de la formation à l'ISRA pour son implication et son suivi quotidien des thésards.

Merci à mon ami et frère Seydou Sow qui a perdu prématurément son épouse Aminata Gueye. Que la terre de Ouakam lui soit légère.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui me sont proches, famille et amis, pour leur soutien et leur amitié tout au long de cette thèse. Comme vous êtes nombreux, je ne peux nommer tout le monde, mais je sais que vous vous reconnaitrez. Merci à tous !

Je dédie cette thèse à mes parents pour leur aide et leurs encouragements pendant ces longues années d'études. Un merci tout particulier à ma super maman qui m'a toujours soutenue et conseillée. Merci aussi à mes frères et sœurs : Cheikh, Pape, Tahirou, Thiaba, Salimata, Marième et Awa pour leur compréhension et leur complicité.

A ma belle famille (mère Max, Sitapha, Moussa et Ass) qui a une grand estime en ma personne.

Enfin, une dédicace spéciale à mon épouse Fifi qui m'a toujours encouragé et épaulé pendant les périodes de « soudure ». Dédicace spéciale aussi à mes enfants Ababacar, Aminata et Tahirou (mon ami) qui me redonnent vie chaque fois que le moral est à plat. Gros bisous les enfants !!

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	11
PREMIERE PARTIE: REVUE DES CONNAISSANCES SUR LA FIEVRE WEST NILE	
PRESENTATION DES ZONES D'ETUDE.....	15
CHAPITRE 1: LA FIEVRE WEST NILE.....	17
1 HISTOIRE DES EPIDEMIES DE LA FIEVRE WEST NILE.....	17
1.1 Afrique tropicale, berceau de la maladie	17
1.2 Proche Orient.....	17
1.3 Emergence en Europe	18
1.4 Emergence dans les Amériques	18
2 ETIOLOGIE.....	19
3 ESPECES AFFECTEES	21
4 VECTEURS DE LA WEST NILE.....	23
5 CYCLES DE TRANSMISSION.....	23
5.1 Transmission Vectorielle	24
5.2 Transmission Verticale	25
5.3 Transmission non vectorielle.....	25
6 LE ROLE DES OISEAUX DANS LA TRANSMISSION.....	26
7 ETUDE CLINIQUE.....	27
7.1 Symptômes	27
7.1.1 L'homme	27
7.1.2 Le cheval	27
7.1.3 Les oiseaux.....	28
7.1.4 Les autres vertébrés	28
7.2 Les lésions	29
7.2.1 Lésions macroscopiques.....	29
7.2.2 Lésions microscopiques	29
8 METHODES DE LUTTE	29
8.1 Traitement.....	29
8.2 Prophylaxie.....	29
8.2.1 Prophylaxie médicale	29
8.2.2 Prophylaxie sanitaire	30
CHAPITRE 2 : LES ZONES D'ETUDE.....	32
1. LA REGION DE BARKEDJI.....	32
1.1 Situation géographique	32
1.2. Climat et végétation.....	33
1.2.1. Le climat.....	33
1.2.2. La végétation	33
1.3. La population.....	34
1.4. L'élevage	36
1.4.1. L'élevage pastoral	36
1.4.2. L'élevage sédentaire.....	36

1.4.3. L'avifaune	37
2. LA REGION DE ROSS BETHIO	37
2.1. Situation géographique	37
1.2. Climat et végétation.....	39
1.2.1. Le climat.....	39
1.2.2. La végétation	39
1.3. La population.....	40
1.4. L'agriculture et l'élevage.....	41
1.5. L'avifaune.....	42
DEUXIEME PARTIE :	44
ECOLOGIE DU VIRUS DE LA FIEVRE WEST NILE AU SENEGAL	44
CHAPITRE 3 : ACTIVITÉ DU VIRUS DE LA FIEVRE WEST NILE ET VECTEURS POTENTIELS, ROSS BETHIO, SENEGAL	46
Publication 1: West Nile virus transmission in sentinel chickens and its potential mosquito vectors, Senegal River Delta, 2008-2009 (en préparation)	46
1. INTRODUCTION.....	47
2. METHODOLOGIE.....	47
2.1. Sites d'étude	47
2.2. Enquêtes sérologiques	48
2.3. Enquêtes entomologiques	50
2.4. Tests sérologiques.....	51
2.5. Gestions des données sérologiques.....	52
2.6. Calculs d'incidences sérologiques	52
3. RESULTATS :	53
3.1. Sérologiques	53
3.2. Entomologiques	55
3.3. Relations sérologie-vecteurs potentiels	58
4. DISCUSSION	59
5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62
Publication 2: Feeding behaviour of potential vectors of West Nile virus in Senegal (Fall et al, 2011).....	67
CHAPITRE 4 :RÔLE POTENTIEL D' <i>Aedes (Aedemorphus) vexans</i> <i>arabiensis</i> DANS LA TRANSMISSION DU VIRUS WEST NILE DANS LE FERLO, SENEGAL.....	75
Publication 3 : The mosquito <i>Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis</i> as a probable vector bridging West Nile virus between birds and horses in Barkedji (Ferlo, Senegal) (Fall et al, 2012).....	75
Publication 4 : Ecologie d' <i>Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis</i> , Patton 1905 (Diptera: Culicidae) dans une région sahélienne : observations croisées entre travaux de terrain et de laboratoire.....	82
1. Introduction	82
2 MATERIEL ET METHODES	84
3. RESULTATS	85

4. DISCUSSION	86
5. CONCLUSION	88
6. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	89
CONCLUSION GENERALE	91
BIBLIOGRAPHIE	97
ANNEXES	114
ANNEXE 1	115

Table des figures

Figure 1: Carte du Sénégal avec la localisation des régions de Barkédji et de Ross-Béthio ...	32
Figure 2: Position des poulaillers sentinelles dans la région de Ross Béthio.	48
Figure 3: Plan d'observation retenu pour l'étude de l'incidence sérologique de la fièvre West Nile à Ross Béthio d'octobre 2008 à janvier 2009	50
Figure 4: Variations des Densités Apparentes par Pièges par nuit (DAP) de <i>Culex neavei</i> et <i>Culex tritaeniorhynchus</i> capturés dans les pièges à appâts poulets en fonction de la distance par rapport au Grand Lampsar.....	57
Figure 5: Comparaison des nombres moyens de moustiques capturés par nuit sur piège à appât cheval et sur piège à appât poulet.....	57
Figure 6: Taux de gorgement des espèces de moustiques capturés dans les pièges à appâts poulets et cheval.	58
Figure 7: Relation entre l'arrivée des oiseaux migrateurs, les DAP des vecteurs potentiels et l'incidence sérologique de la West Nile d'octobre 2008 à janvier 2009 dans les poulaillers sentinelles de Ross Béthio.....	59

Table des tableaux

Tableau 1: Infection par le virus West Nile chez des vertébrés autres que les oiseaux et les équins	22
Tableau 2: Données disponibles pour le calcul de l'incidence sérologique des anticorps contre le VWN sur des poulaillers sentinelles situés à Ross Béthio (Sénégal) d'octobre 2008 à janvier 2009.....	54
Tableau 3: Taux d'incidence sérologique des anticorps contre le VWN dans des poulaillers sentinelles placés à Ross Béthio (Sénégal) d'octobre 2008 à janvier 2009.....	55
Tableau 4: Densité Apparente par Piège par nuit (DAP) des moustiques capturés sur piège à appât cheval et sur pièges à appâts poulets à Ross Béthio	56

Table des photographies

Photo 1: Mare de Kangaledji en eau recouverte de plantes aquatiques (nénuphars)	34
Photo 2: Jeune pasteur Peul conduisant son troupeau à une mare temporaire pour l'abreuvement.....	35
Photo 3: <i>Grand Lampasar</i> , affluent du fleuve Sénégal arrosant Ross-Béthio	39
Photo 4: Parcelles de riz irriguées dans la commune de Ross-Béthio.....	41
Photo 5: Populations d'oiseaux séjournant dans le Parc National des Oiseaux du Djoudj.....	43
Photo 6: Poulets sentinelles à J1 et à J90 du suivi dans un poulailler sentinelle à Ross Béthio d'octobre 2008 à janvier 2009.....	49
Photo 7: Piège à appât cheval et piège à appât poulets en fonctionnement à Ross Béthio d'octobre 2008 à janvier 2009	51
Photo 8: Empreintes de pattes de bovins venus s'abreuver dans une mare à Barkédji	84
Photo 9: Station météo installée au bord d'une mare à Barkédji.	85

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies émergentes zoonotiques (maladies naturellement transmissibles à l'homme et à l'animal et vice versa) constituent, depuis quelques années, une véritable préoccupation pour les scientifiques et les décideurs politiques. Menace réelle pour les pays du Nord (fièvre West Nile, dengue, fièvre de la vallée du Rift), elles sont souvent endémiques et constituent un frein au développement dans les pays du Sud où les populations majoritairement rurales, sont souvent en contact avec les animaux domestiques qui occupent une place importante dans leurs économies. Les arboviroses (maladies virales transmises par des arthropodes vecteurs) font partie des maladies émergentes zoonotiques les plus redoutées car les arthropodes vecteurs et certains hôtes réservoirs sont capables de parcourir, avec le pathogène, de grandes distances et d'échapper aux barrières sanitaires transfrontalières. C'est dans ce groupe de maladies que figure la fièvre du Nil occidentale ou fièvre West Nile (WN), objet de la présente étude.

La fièvre West Nile est endémique, négligée, en Afrique au sud du Sahara. Ce caractère endémique a été mis en évidence par de nombreuses enquêtes sérologiques chez les animaux (Cabre *et al.*, 2006a; Chevalier *et al.*, 2006; Chevalier *et al.*, 2008b; Chevalier *et al.*, 2009) et chez l'homme (Murgue *et al.*, 2002). En santé humaine et animale, aucun cas clinique de la maladie n'a été jusqu'à présent documenté au Sénégal. Cependant, les signes cliniques ressemblant à ceux du paludisme chez l'homme (syndrome grippal), beaucoup de cas peuvent passer inaperçus soit par un défaut de diagnostic soit par une méconnaissance de la maladie. Il en est de même en santé animale où les symptômes sont similaires à ceux de plusieurs encéphalites chez les chevaux. Ce n'est qu'en 1996 que la maladie a montré en Europe, une facette meurtrière en Roumanie où 17 personnes sont décédées d'une infection au virus West Nile (Tsai *et al.*, 1998). Cette propriété meurtrière s'est confirmée avec, l'introduction récente de la maladie dans les Amériques où de nombreuses pertes humaines et animales ont été enregistrées suite à une épidémie qui a démarré en 1999 à New York. Ce caractère meurtrier de la West Nile dans les Amériques est surtout imputé au fait que le virus nouvellement introduit a trouvé des vecteurs compétents et des populations d'hôtes sensibles qui n'ont jamais été en contact auparavant avec le virus, donc totalement naïves (Lanciotti *et al.*, 1999). Malgré les nombreuses études faites à travers le monde pour comprendre l'épidémiologie, les conditions d'émergence et d'endémisation de la maladie en Afrique sub-saharienne, notamment au Sénégal, restent à élucider et à comprendre. Nous savons que pour que la transmission soit possible dans un environnement donné, il est impératif que les principaux

intervenants dans le cycle épidémiologique de la maladie soient présents. Il s'agit du virus, des vecteurs, des hôtes réservoirs (oiseaux migrateurs et résidents), des hôtes sensibles. Globalement, deux cas de figure peuvent être retenus au Sénégal. Dans la région du Ferlo, marquée par l'existence de collections d'eaux temporaires en saison des pluies, la transmission pourrait être limitée à cette période favorable au développement des vecteurs et à la présence d'oiseaux migrateurs ou résidents, véritables réservoirs du virus, et d'hôtes sensibles dont l'homme et le cheval. En effet, l'agro-écosystème du Ferlo se caractérise en hivernage par d'importants paturages qui attirent d'importantes populations humaines et animales provenant d'horizons différents, avec des statuts pathologiques et immunitaires différents, combinée à l'explosion des populations de moustiques vecteurs potentiels créant des conditions favorables à l'émergence et la diffusion du virus West Nile. Les mares remises en eau, constituent par ailleurs des biotopes très fréquentés par des micro-mammifères sauvages ou des oiseaux qui constituent autant de sources trophiques potentielles utilisables par les vecteurs pour accomplir leur cycle trophogonique. Une hypothèse pour la compréhension du mécanisme épidémiologique d'apparition de cette arbovirose dans l'agro-écosystème du Ferlo, serait que l'émergence soit initiée par les *Aedes*, peu ornithophiles, pour ensuite être amplifiée par les *Culex* dont l'apparition, en rapport avec le remplissage des mares, est tardive. Dans cette région, les populations d'*Aedes*, notamment *Ae vexans arabiensis*, sont les premières à apparaître à l'entame de la saison des pluies à partir du stock d'œufs de la saison précédente car les œufs de cette espèce résistent à la dessiccation. Les *Culex* au contraire n'apparaissent en quantité abondante qu'à partir du milieu de la saison des pluies en raison de leur bio-écologie (Mondet *et al.*, 2005a). En effet, les populations de *Culex*, dont les œufs ne résistent pas à la dessiccation, disparaissent de ces zones à la fin de la saison des pluies lorsque toutes les mares sont sèches et ne les recoloniseront que lorsque l'eau y sera revenue. La recolonisation se fera progressivement à partir de femelles ayant hibernées où à partir de gîtes permanents. Le suivi effectué par Chevalier *et al.*, (2008a) sur des poulets sentinelles a fait état d'une transmission faible (taux d'incidence observé = 1%) entre juillet et septembre, période durant laquelle prédominent les *Aedes*, et d'une forte transmission (taux d'incidence = 15%) entre octobre et novembre dominée par les *Culex*. Tandis que dans la vallée et le Delta du fleuve Sénégal où les cours d'eaux sont permanents et les moustiques et autres oiseaux potentiels réservoirs sont présents toute l'année, la transmission est continue avec cependant des pics en fin d'hivernage au moment de l'arrivée massive d'oiseaux migrateurs coïncidant avec la pullulation de moustiques vecteurs (Fall *et al.*, 2011). En effet, le Delta du fleuve Sénégal est caractérisé aussi par une intense activité

agricole, notamment rizicole, grâce à un système d'irrigation qui a suivi la politique de construction de barrages hydro-agricoles (par exemple, le barrage de Diama). Ces vastes étendues aménagées inondables toute l'année constituent des gîtes de reproduction des moustiques et des sources alimentaires pour beaucoup de mammifères et d'oiseaux sur lesquels se gorgent les moustiques. Cette région, qui habrite aussi le Parc National des Oiseaux du Djoudj (PNOD), accueille chaque année des milliers d'oiseaux migrants en provenance d'horizons différents avec des statuts pathologiques et immunitaires différents, est sans doute une zone de transmission active du virus West Nile avec, probablement, des pics associés à la présence massive d'oiseaux et de moustiques vecteurs. Quasiment dépourvue de moustiques du genre *Aedes*, la faune culicidienne de la région du Delta est largement dominée par les *Culex*. Parmi les moustiques trouvés infectés par le virus West Nile au Sénégal figurent plusieurs espèces se référant à des genres différents : *Aedes vexans arabiensis*, *Culex poicilipes*, *Culex neavei*, *Culex tritaeniorhynchus*, *Culex perfuscus*, *Aedomyia africana*, *Mansonia uniformis* (Gordon *et al.*, 1992; Traore-Lamizana *et al.*, 1994; Digoutte, 1995; Traore-Lamizana *et al.*, 2001; Diallo *et al.*, 2005). Cependant le rôle épidémiologique de chacune de ces espèces dans la transmission de la maladie doit être davantage élucidé.

L'endémisation de la WN au Sénégal pose donc des questions scientifiques, notamment, l'identification des vecteurs impliqués dans la transmission, mais aussi les relations entre écosystèmes et cycles de transmission.

Ce travail de thèse, qui étudie l'écologie du virus de la fièvre du Nil occidental au Sénégal, s'inscrit dans ce contexte. Il a pour objectifs :

- D'identifier les vecteurs potentiels de la West Nile au Sénégal et de comprendre leurs rôles dans l'épidémiologie de cette maladie,
- De déterminer la circulation du virus West Nile dans la population aviaire dans le temps et dans l'espace.

Pour atteindre notre premier objectif, nous avons étudiés les interactions hôte-vecteur et procédés à la recherche de virus sur les vecteurs capturés sur le terrain. Seules les études sur les interactions hôte-vecteur sont présentées dans ce document de thèse. Concernant le second objectif, un suivi sérologique sur poulets sentinelles a été effectué dans le temps et dans l'espace pour déterminer la période de transmission. Il a été effectué parallèlement un suivi entomologique dans les poulaillers sentinelles pour identifier les vecteurs susceptibles de transmettre le virus aux poulets.

Ce document comprend deux parties. La première partie présente une synthèse bibliographique des connaissances anciennes et récentes sur la fièvre West Nile dans le monde et au Sénégal et une description des zones d'étude. La deuxième partie traite des aspects écologiques du virus West Nile au Sénégal, spécifiquement des vecteurs potentiels et de la dynamique spatio-temporelle de la transmission dans les 2 zones d'étude (Delta du Fleuve et Ferlo). La conclusion générale propose, à partir des résultats obtenus, des hypothèses de schémas de transmission de la West Nile au Sénégal et dégage des perspectives pour une meilleure compréhension des cycles épidémiologiques de cette arbovirose.

PREMIERE PARTIE : REVUE DES CONNAISSANCES SUR LA FIEVRE WEST NILE ET PRESENTATION DES ZONES D'ETUDE

Cette première partie comprend deux chapitres. Le premier est la synthèse de documents publiés sur la maladie du Nil occidental dans le monde, en Afrique et au Sénégal. A partir de documents historiques et récents, nous avons retracés l'évolution de cette maladie virale zoonotique dans le temps, depuis sa découverte, en parlant des grandes épizooties, de son épidémiologie, des moyens de diagnostic et des stratégies de lutte existantes. Ensuite, nous avons parlé des espèces sensibles, des vecteurs et des cycles de transmission. Le second chapitre décrit les régions du Ferlo et du Delta du fleuve Sénégal où les travaux présentés dans cette thèse sont menés.

CHAPITRE 1 : LA FIEVRE WEST NILE

1 HISTOIRE DES EPIDEMIES DE LA FIEVRE WEST NILE

1.1 Afrique tropicale, berceau de la maladie

La fièvre West Nile est apparue pour la première fois en Afrique tropicale, notamment en Afrique de l'Est, en Ouganda dans le district de West Nile, en 1937 (Smithburn *et al.*, 1940). Le virus fut isolé fortuitement lors d'une enquête épidémiologique sur la répartition de la fièvre jaune en Afrique Centrale.

Après l'Ouganda, ce fut autour de l'Egypte en 1950 d'enregistrer une épidémie de West Nile. Dans ce pays, le virus a aussi été isolé chez l'homme (Melnick *et al.*, 1951). Puis en 1954, avec les travaux de Smithburn *et al.* (1954) et Taylor *et al.* (1956), le caractère endémique de la maladie dans ce pays est mis en évidence.

Des enquêtes entomologiques réalisées dans la basse vallée du fleuve Sénégal jouxtant le Parc National des Oiseaux du Djoudj (PNOD) ont montré une circulation importante du virus (Gordon *et al.*, 1992). Dans la région du Ferlo, le virus fut aussi isolé chez de nombreuses espèces de moustiques des genres *Culex*, *Mymomia*, *Aedomya* (Traore-Lamizana *et al.*, 1994), *Aedes* (Digoutte, 1995) et *Mansonia* (Diallo *et al.*, 2005).

Les taux de prévalence très élevés obtenus dans différentes enquêtes sérologiques chez les chevaux (Cabre *et al.*, 2006b; Chevalier *et al.*, 2006) et lors d'enquêtes sur des oiseaux migrateurs, résidents et domestiques dans la région de Barkédji (Chevalier *et al.*, 2008b; Chevalier *et al.*, 2009), témoignent de la circulation récurrente du virus au Sénégal.

L'Afrique du Sud dans les années 1950 (McIntosh *et al.*, 1967) 2007, 2008 et 2009 (Venter & Swanepoel, 2010; Zaayman & Venter, 2012), Madagascar (Fontenille *et al.*, 1985; Morvan *et al.*, 1990), le Gabon en 2010 (Pourrut *et al.*, 2010) le Maroc en 1996, 2003 et 2008 (Figuerola *et al.*, 2009), l'Algérie en 1994 (Le Guenno *et al.*, 1996), la Tunisie en 1997, 2003 et 2008 (Triki *et al.*, 2001; Ben Hassine *et al.*, 2011), le Soudan en 2002 (Depoortere *et al.*, 2004) ont enregistrés la circulation du virus avec des cas humains et/ou animaux.

1.2 Proche Orient

En 1951, la maladie éclate en Israël. Ce fut la première fois que le virus est décrit hors du continent africain. Un fort taux de morbidité (40%) fut enregistré chez les populations, surtout les jeunes (Bernkopf *et al.*, 1953). En 1998 la West Nile resurgit chez les animaux, notamment avec la mort d'oiseaux, suivi en 1999 et 2000 par des cas humains (Bin *et al.*,

2001). Entre 2005-2010 et en 2011, plusieurs cas animaux et humains ont été enregistrés (ECDC, 2011; Kopel *et al.*, 2011).

Au-delà du Proche Orient, la West Nile existe en Asie de l'Ouest et en Asie Centrale jusqu'aux Indes (George *et al.*, 1984).

1.3 Recrudescence en Europe

Des foyers ou traces de circulation du virus West Nile en Europe sont répertoriés depuis 1962 (Murgue *et al.*, 2001b). La circulation de West Nile en Europe est souvent sporadique dans plusieurs pays. Par exemple, en France la maladie est réapparue en Camargue en 2000 après un silence de plusieurs décennies. En effet, la maladie a été déclarée pour la première fois en 1962, après plus rien jusqu'à sa réémergence. Ensuite, plusieurs cas sont recensés en 2000, 2003, 2004 et 2006 (Murgue *et al.*, 2001a; Zeller & Schuffenecker, 2004; Durand *et al.*, 2005). Le même profil épidémiologique est enregistré dans plusieurs pays d'Europe : Roumanie en 1997 et 1998 (Cernescu *et al.*, 2000), en République Tchèque en 1997 (Hubalek *et al.*, 1999), en Italie en 1998 (Autorino *et al.*, 2002), en Espagne (Bofill *et al.*, 2006), au Portugal (Esteves *et al.*, 2005) et au Royaume-Uni (Buckley *et al.*, 2003; Buckley *et al.*, 2006). Récemment, en 2010- 2011, la Grèce a connue plusieurs foyers de West Nile avec plus de trente décès humains (Danis *et al.*, 2011). Dans les pays voisins de l'Europe, plusieurs cas ont été signalés récemment dans la fédération de Russie, en Albanie, en Turquie et en Israël (ECDC, 2011; Kopel *et al.*, 2011).

1.4 Emergence dans les Amériques

Apparu pour la première fois en 1999 dans l'Est des Etats-Unis dans l'Etat de New York, le virus WN s'est répandu à l'ensemble des Etats-Unis (O'Leary *et al.*, 2004). De nombreux cas fatals d'humains, de chevaux et d'oiseaux ont été enregistrés (Garmendia *et al.*, 2001). La souche du virus West Nile responsable de ces flambées est très similaire à la souche israélienne isolée en 1998, suggérant une introduction à partir du Proche Orient (Lanciotti *et al.*, 1999). En 2004, tous les états saufs deux ont connu la circulation virale : Hawaï et l'Alaska. Cela illustre la grande capacité de diffusion du virus, qui a retrouvé localement toutes les conditions favorables à son "épanouissement", à savoir des vecteurs compétents, des hôtes amplificateurs et des couloirs migratoires d'oiseaux fonctionnels. A la date du 15 novembre 2011, la division Statistiques, Surveillance et Contrôle du Center for Disease Ccontrol and Prevention (CDC) a fait état dans son rapport de 627 cas humains dont 36 cas mortels en 2011 recensés dans le territoire des USA, sauf Hawaï et l'Alaska qui sont toujours indemnes.

Il a également diffusé au Canada dès août 2001, à partir de l'Ontario (Garmendia *et al.*, 2000). La surveillance mise en place dans les provinces du Canada a permis de détecter le virus jusqu'en Alberta en 2005.

Dès 2001 il est mis en évidence en Amérique Centrale, au Mexique, sur des oiseaux sédentaires (Ulloa *et al.*, 2003; Farfán-Ale *et al.*, 2004). Les premières preuves d'infection équine sont apportées en 2002 dans les états de Coahuila et du Yucatan (Blitvich *et al.*, 2003b; Llorono-Pino *et al.*, 2003), puis plus largement en 2003. Les premiers cas humains, peu nombreux et asymptomatiques, surviennent en octobre 2003 à Sonora et Chihuahua.

D'autres pays d'Amérique Centrale sont également concernés : au Salvador, des séropositifs équins et quelques cas cliniques sont mis en évidence entre 2001 et 2003 (Cruz *et al.*, 2005). Au Belize, aucune circulation n'a été mise en évidence lors des enquêtes sérologiques effectuées sur des oiseaux sauvages en 2002 et 2003 mais la première preuve de circulation dans le pays est un cas équin survenant fin octobre 2003 (Komar & Clark, 2006).

Dans les Caraïbes, bien que la circulation de West Nile ait été mise en évidence à partir de 2002, au printemps, sur des oiseaux résidents de Jamaïque (DuPuis *et al.*, 2003), en novembre sur des oiseaux sédentaires de la République Dominicaine (Komar *et al.*, 2003b) et entre juin et novembre en Guadeloupe sur des équidés et des volailles (Quirin *et al.*, 2004), les premiers isolement du virus ne sont intervenus qu'en 2007 sur des poulets sentinelles et des moustiques (Barrera *et al.*, 2008). Une enquête sérologique réalisée à Puerto Rico et au Cuba en 2004 sur des oiseaux sauvages a révélé des cas positifs sur les migrants et les résidents (Dupuis *et al.*, 2005). Le premier cas humain a été identifié en 2001 dans les îles Cayman (Komar & Clark, 2006).

La circulation du virus dans les zones néotropicales, où les conditions climatiques et la présence de vecteurs potentiels sont a priori favorables à une circulation régulière, représente une menace réelle pour l'Amérique du Sud, où le virus a déjà commencé à circuler, sur des chevaux en Colombie en 2004 (Mattar *et al.*, 2005), et au Venezuela en 2006 sur des chevaux et des oiseaux (Bosch *et al.*, 2007). Pour la première fois en 2009 au Brésil, la circulation du virus West Nile a été mise évidence chez des chevaux suite à des investigations sur des chevaux, moustiques et caïmans (Pauvolid-Corrêa *et al.*, 2011). L'Argentine est aussi touchée par la West Nile ; le virus y est fréquemment détecté (Morales *et al.*, 2006).

2 ETIOLOGIE

Le virus West Nile appartient à la famille des *Flaviviridae* et au genre *Flavivirus* qui regroupe de nombreux virus classés en 8 complexes taxonomiques ; le virus West Nile appartient à

celui de l'Encéphalite Japonaise (Calisher *et al.*, 1989; Heinz *et al.*, 2000). Les *flavivirus* ont des propriétés antigéniques proches, en particulier ceux du complexe de l'Encéphalite Japonaise, ce qui est à l'origine de réactions croisées fréquentes (Calisher *et al.*, 1989) entraînant des difficultés de diagnostic. Le virus West Nile est un virus à ARN positif, simple brin et enveloppé de 45 à 50 nm de diamètre. Le génome des *Flavivirus* est petit (11 000 à 12 000 nucléotides) et comporte deux régions non codantes aux extrémités 3' et 5'. Il code pour 10 protéines dont 3 structurales (protéines C, M et E) et 7 non structurales « NS » (Brinton, 2001; Peterson & Roehrig, 2001). L'enveloppe dérive de la membrane cellulaire de l'hôte et contient 2 glycoprotéines. Les protéines E associées aux protéines M permettent l'adhésion aux cellules, le tropisme tissulaire, la stimulation des cellules immunitaires et la réplication. La présence de virus dans l'organisme d'un vertébré induit une réponse immunitaire de type humoral principalement, après une courte période de virémie.

Deux lignées de virus divergent de 30% ont été mises en évidence par des analyses génétiques (Lanciotti *et al.*, 1999). La lignée I regroupe les souches isolées en Afrique du Nord, de l'Ouest, en Afrique Centrale, en Europe de l'Est et du Sud, en France, en Inde, au Moyen-Orient et aux USA, ainsi que les virus Kunjin isolés en Australie. Les relations proches entre les isolats du Kenya, de la Roumanie et du Sénégal montrent la mobilité géographique du virus à travers les oiseaux migrateurs (Charrel *et al.*, 2003). Le virus isolé dans le Bronx à New York en 1999 est très proche des souches de lignée I qui ont circulées en Israël et Tunisie en 1998 (Lanciotti *et al.*, 2002), très probablement introduit par l'homme par le biais d'un animal virémique dont l'espèce reste à déterminer. Jusqu'à récemment toutes les souches de lignée II ont été isolées en Afrique Sub-Saharienne et en Madagascar, mais des souches de lignée II ont été isolées plusieurs fois en Hongrie en 2004 et 2005 sur des oiseaux (Erdelyi *et al.*, 2007) et récemment sur des cas humains avec décès en Italie (Magurano *et al.*, 2012). L'appartenance du virus à une lignée conditionnerait sa pathogénicité. Les souches de la lignée I seraient responsables des infections humaines aux formes cliniques graves et des mortalités aviaires, tandis que les souches de la lignée II ne seraient pas associées aux formes nerveuses (Peterson & Roehrig, 2001).

Le virus West Nile est sensible à la chaleur, aux solvants des lipides et à la plupart des détergents. Sa résistance dans le milieu extérieur est donc théoriquement très faible. Cela est important pour l'épidémiologie mais également pour le diagnostic et la réalisation des prélèvements. La survie du virus dans un cadavre est probablement de courte durée.

La plupart des souches de West Nile sont responsables d'affections bénignes ou inapparentes mais certaines sont neuropathogènes. C'est le cas des souches New Yorkaise et israélienne,

très proches phylogénétiquement (Lanciotti *et al.*, 1999) et particulièrement virulentes, caractérisées par une neuroinvasivité et une neurovirulence plus importantes (Steele *et al.*, 2000).

3 ESPECES AFFECTEES

Les oiseaux ont été identifiés dès les années 1950 comme les hôtes et les réservoirs du virus West Nile (Work *et al.*, 1953, 1955). Ils sont aussi les plus affectés par la maladie. Rien qu'en Amérique du Nord, près de 200 espèces d'oiseaux sont réputées sensibles à l'infection par le virus West Nile (Komar, 2003). Les chevaux et l'homme, bien que pouvant mourir de la maladie, sont considérés comme des impasses épidémiologiques (Hubalek & Halouzka, 1999) car développent des niveaux de virémie faibles ne permettant pas aux arthropodes de s'infecter lors des repas de sang. Une trentaine d'autres espèces de vertébrés sont sensibles à l'infection par le virus West Nile mais seuls les lémuriens, les grenouilles et les hamsters peuvent développer des niveaux de virémie suffisants permettant la transmission par les arthropodes (van der Meulen *et al.*, 2005) (Tableau 1).

Des études sérologiques menées sur les chevaux au Sénégal ont montré des taux de séroprévalence élevés variant entre 78 et 92% (Cabre *et al.*, 2006b; Chevalier *et al.*, 2006). Ces études confirment que la West Nile est enzootique au Sénégal.

Tableau 1: Infection par le virus West Nile chez des vertébrés autres que les oiseaux et les équins (d'après van der Meulen *et al* (2005)) modifié.

Vertébrés	Détection d'anticorps	Détection de virus	Cas de maladie	Infection expérimentale
Réptiles				
Alligator	-	+	+	-
Crocodile	+	-	-	-
Varan-crocodile	+	-	-	-
Serpent	-	-	-	+
Iguane vert	-	-	-	+
Tortue	+	-	-	-
Batraciens				
Grenouille	-	+	-	+
Ouaouaron américain	-	-	-	+
Mammifères				
Alpaga	-	+	+	-
Babouin	+	-	-	-
Chauve-souris	+	-	-	-
Ours noirs	+	-	-	-
Ours brun	+	-	-	-
Dromadaire	+	-	-	-
Chat	+	-	-	+
Bovin	+	-	-	-
Chien	+	+	+	+
Chèvre	+	-	-	-
Hamster	-	-	-	+
Lémurien	+	-	-	+
Souris	-	-	-	+
Porc	+	-	-	+
Macaque à queue de cochon	+	-	-	-
Lapin	+	-	-	-
Raton laveur	+	-	-	-
Macaque rhesus	+	-	-	+
Cerf	-	+	+	-
Rongeurs	+	-	-	+
Mouton	+	+	+	+
Ecureuil	+	+	-	+
Loup	-	+	+	-

4 VECTEURS DE LA WEST NILE

Les principaux vecteurs biologiques de la West Nile sont des moustiques appartenant en majorité au genre *Culex* (Annexe 1). Plusieurs espèces de moustiques appartenant à plusieurs genres ont été trouvées naturellement infectées par le virus West Nile mais seules quelques unes ont la capacité de transmettre efficacement le virus. Les vecteurs susceptibles de transmettre sont ceux dont la compétence est prouvée au laboratoire ou ceux fréquemment trouvés associés au virus dans la nature.

Au Sénégal, lors d'enquêtes réalisées à Barkédji, dans la vallée et le delta du fleuve Sénégal, au Sénégal oriental et à Kounguel, plus de 200 souches du virus West Nile ont été isolées chez 14 espèces de moustiques appartenant à 5 genres (Gordon *et al.*, 1992; Traore-Lamizana *et al.*, 1994; Digoutte, 1995; Traore-Lamizana *et al.*, 2001; Diallo *et al.*, 2005) dont *Culex poicilipes* et *Aedes vexans arabiensis*. Ces 2 culicidés ont également été trouvés porteurs du virus de la fièvre de la vallée du Rift. Les souches circulant au Sénégal appartiennent aux 2 lignées décrites pour le virus West Nile.

Les multiples associations d'*Aedes vexans arabiensis* avec le virus West Nile dans la nature (Digoutte, 1995; Fontenille *et al.*, 1998; Traore-Lamizana *et al.*, 2001), ses fortes densités en début de saison des pluies (Mondet *et al.*, 2005b), sa compétence vectorielle prouvée au laboratoire (Turell *et al.*, 2005; Tiawsirisup *et al.*, 2008) ainsi que son comportement trophique opportuniste (Fall *et al.*, 2012) font de ce moustique un des principaux vecteurs du virus West Nile dans le Ferlo.

Au contraire au niveau du Delta du fleuve Sénégal où les cours d'eau sont permanents, c'est plutôt *Culex tritaeniorhynchus* et *Culex neavei* qui sont les principaux vecteurs du virus West Nile (Fall *et al.*, 2011). Les autres espèces (*Culex poicilipes*, *Culex perfuscus*, *Aedoemyia africana*, *Mansonia uniformis*,...) joueraient des rôles mineurs dans l'épidémiologie de la maladie dans cette région.

5 CYCLES DE TRANSMISSION

Comme tous les membres du complexe de virus de l'encéphalite japonaise, le virus West Nile est maintenu dans la nature par un cycle de transmission dont les vecteurs sont des arthropodes. Les moustiques sont les vecteurs principaux, bien que des isollements de virus à partir des tiques molles et dures aient également été rapportés (Hubalek & Halouzka, 1999). Les oiseaux sauvages sont les principaux hôtes du virus de la fièvre du Nil occidental. Ils développent un niveau élevé de virémie à long terme, permettant d'infecter des vecteurs. La transmission du virus West Nile entre les arthropodes et les oiseaux est appelée le cycle

enzootique ou selvatique. La transmission du virus Wile Nile entre les arthropodes et les autres vertébrés, y compris l'homme et le cheval, est appelée transmission épizootique. Outre la transmission par les arthropodes, la transmission directe, sans la participation d'arthropodes, peut jouer un rôle dans le maintien du virus dans la nature. Il ne faut pas non plus négliger la transmission horizontale et la transmission verticale dans le maintien du virus dans la nature.

5.1 Transmission Vectorielle

Deux notions sont importantes dans la transmission vectorielle : la compétence vectorielle et la capacité vectorielle. Un vecteur est dit compétent s'il est capable, en laboratoire, de s'infecter à partir d'une source virémique lors du repas de sang, de permettre la multiplication de l'agent pathogène dans son organisme et de le transmettre à un individu sain lors d'un repas de sang. La capacité vectorielle est la capacité d'un vecteur donné à transmettre le virus dans un environnement donné. Elle dépend de la durée de vie, de la densité des vecteurs et de la durée de la période d'incubation extrinsèque du virus. Elle dépend également de facteurs intrinsèques (génétiques) qui déterminent les préférences trophiques du vecteur et d'autres facteurs extrinsèques qui influencent le contact hôte/vecteur, comme la densité et l'âge de la population vectorielle, les conditions environnementales qui agissent sur l'agressivité et la longévité des vecteurs et sur la population d'hôtes.

La transmission du virus West Nile par les moustiques fût démontrée pour la première fois par Philip et Smadel (1943) sur *Aedes albopictus* mais les principaux moustiques impliqués dans la transmission enzootique appartiennent au genre *Culex* et sont ornithophiles. Il s'agit de *Cx. univittatus*, *Cx. antennatus*, *Cx. theileri* et *Cx. pipiens* en Afrique, de *Cx. pipiens* et *Cx. univittatus* au Moyen Orient, de *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* en Europe et Russie et de *Culex tritaeniorhynchus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. vishnui* en Asie (Hubalek et Halouska, 1999). Aux Etats Unis, *Cx. pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius*, *Cx. quinquefasciatus*, *Culex nigripalpus* et *Cx. tarsalis* sont les principaux vecteurs (Andreadis *et al.*, 2001; Reisen *et al.*, 2004; Hayes *et al.*, 2005a; Lukacik *et al.*, 2006). Au Sénégal, *Culex neavei* est suspecté de jouer le rôle de vecteur enzootique du fait des multiples isollements de virus sur cette espèce et de son comportement trophique ornithophile. Selon de nombreuses études, plusieurs espèces de moustiques appartenant à plusieurs genres ont été trouvées naturellement infectées par le virus West Nile (Tableau annexe 1) mais ne jouent pas de rôle important dans la transmission du fait qu'elles n'honorent pas un ou plusieurs facteurs de la capacité vectorielle.

Certains moustiques qui ont un comportement trophique en partie ornithophile, en partie mammophile ou d'autres qui ont un comportement trophique opportuniste transmettent le

virus aux autres vertébrés, y compris l'homme et le cheval. Ces vecteurs servent de ponts entre le cycle selvatique (moustique-oiseau) et le cycle épizootique et sont appelés "vecteurs passerelles" ou "bridge vectors". L'isolement répété du virus West Nile chez des espèces mammophiles, comme *Ae. vexans vexans* aux Etats Unis (Andreadis *et al.*, 2004) a fait de celui-ci un potentiel vecteur passerelle. Pareil pour le Sénégal où de nombreux isollements du virus West Nile ont été effectués sur le représentant tropical de cette espèce *Aedes vexans arabiensis* (Digoutte, 1995; Fontenille *et al.*, 1998; Traore-Lamizana *et al.*, 2001).

Plusieurs espèces de tiques molles (*Argasidae*) et dures (*Ixodidae*) ont été aussi trouvées infectées naturellement (Hubalek & Halouzka, 1999) mais leur rôle dans la transmission du virus West Nile reste mitigé. En effet, les expériences réalisées dans ce sens ont montré que les *Ixodidae* nymphes sont capables de s'infecter et de maintenir le virus jusqu'au stade adulte mais sont incapable de le transmettre (Anderson *et al.*, 2003; Reisen *et al.*, 2007). Par contre chez certains *Argasidae*, l'infection est possible sur des animaux virémiques et la transmission aussi pendant plusieurs jours voir plusieurs mois : *Ornithodoros moubata* (Whitman & Aitken, 1960; Lawrie *et al.*, 2004), *Argas hermanni* (Vermeil *et al.*, 1960), *Argas arboreus* (Abbassy *et al.*, 1993), *Carios capensis* (Hutcheson *et al.*, 2005). Elles permettent ainsi le maintien du virus dans la nature et la création d'une situation d'endémisation de la maladie dans une zone donnée.

5.2 Transmission Verticale

La transmission verticale requiert que le virus soit transmis des parents aux descendants. Pour les vecteurs, ce mode de transmission a été clairement démontré chez les moustiques Culicidae et certaines tiques du genre *Argas* (Miller *et al.*, 2000; Turell *et al.*, 2001; Goddard *et al.*, 2003) et pourrait servir de mécanisme pour que le virus traverse les conditions extrêmes dans les régions avec une saison défavorable (Reisen *et al.*, 2006).

5.3 Transmission non vectorielle

Ce mode de transmission est rare et se fait généralement par ingestion de substances contenant le virus. Ces substances peuvent être des excréments orales ou cloacales d'oiseaux contenant du virus qui contaminent d'autres oiseaux (Komar *et al.*, 2003a), de la viande d'oiseaux contenant le virus qui contamine des oiseaux carnivores (Komar *et al.*, 2003a), de la viande de vertébrés qui contamine d'autres vertébrés (cas des alligators ayant consommés la viande de chevaux atteints par la West Nile) (Miller *et al.*, 2003). La transfusion et les transplantations d'organes (Planitzer *et al.*, 2009), et les autopsies d'animaux morts de West Nile (Venter *et al.*, 2010) peuvent également entraîner une transmission.

6 LE ROLE DES OISEAUX DANS LA TRANSMISSION

Les oiseaux ne peuvent jouer un rôle dans le cycle de transmission que s'ils développent des titres de virémie suffisants pour infecter les vecteurs qui s'en nourrissent. Généralement, les titres de virémie supérieurs à $10^{6,0}$ UFP/ml (Unités Formant Plages par millilitre) de sang sont considérés comme infectieux pour la majorité des moustiques du genre *Culex* (Turell *et al.*, 2000; Sardelis *et al.*, 2001; Goddard *et al.*, 2002). Une étude approfondie menée par Komar *et al.* (2003a) sur 25 espèces d'oiseaux appartenant à plusieurs ordres aviaires a montré que les titres de virémie chez les oiseaux dépassent souvent $10^{6,0}$ UFP / ml de sang. Les Passeriformes ont été les oiseaux les plus sensibles, avec des titres de virémie qui atteignaient $10^{12,1}$ UFP / ml. Il est généralement admis que les passeriformes jouent un rôle principal dans la transmission du virus West Nile. Les Gallinacés et les Psittacidés sont les moins sensibles à l'infection par le virus West Nile (Komar *et al.*, 2003a). Au Sénégal, pays endémique pour la West Nile, des études sérologiques effectuées sur les populations aviaires du Ferlo et du Parc National Ornithologique de Djoudj ont permis d'identifier des oiseaux aussi bien migrateurs que résidents pouvant intervenir dans la transmission et le maintien du virus dans ces zones. Des anticorps anti-West Nile ont été détectés sur 13 espèces d'oiseaux dont 5 sont des migrateurs : quatre Passeriformes (*Lanius senator*, *Anthus trivialis*, *Hippolais opaca* et *Cercotrichas galactotes*), et un Piciforme (*Jynx torquilla*) (Chevalier *et al.*, 2009). Parmi les huit oiseaux résidents, quatre sont des Passeriformes (*Lanius barbarus*, *Cercotrichas podobe*, *Ploceus cuculatus* et *Ploceus volatus*), trois sont des Colombiformes (*Oena capensis*, *Streptopelia senegalensis* et *Streptopelia vinacea*), et un Coliiforme (*Urocolius macrourus*) (Chevalier *et al.*, 2009). De plus, les périodes de fortes circulations du virus dans le Ferlo ont été déterminées (entre octobre et novembre) par l'utilisation de poulets sentinelles (Chevalier *et al.*, 2008b).

En plus du titre de virémie, la probabilité que le virus West Nile se transmette d'un oiseau infecté à un moustique augmente avec la persistance du virus dans le sang de l'oiseau. Une telle persistance a été démontrée chez des pigeons gris infectés expérimentalement (Semenov *et al.*, 1973) chez qui le virus West Nile a pu être isolé du sang jusqu'à 100 jours après l'infection. Komar *et al.* (2003a) ont détecté des titres élevés de virus (jusqu'à $10^{6,9}$ UFP/0,5 cm³) dans des échantillons de peaux prélevés sur des oiseaux morts 14 jours après l'inoculation expérimentale. Cette persistance de la virémie est un facteur important dans la dissémination du virus à travers le monde, surtout avec les oiseaux migrateurs qui peuvent parcourir des centaines voir des milliers de kilomètres avec le virus. Cela se traduit par

l'isolement de souches virales très proches au plan phylogénétique dans tous les continents (Lanciotti *et al.*, 1999).

7 ETUDE CLINIQUE

En Afrique de l'Ouest, notamment au Sénégal, la fièvre West Nile est très peu connue des services de santé humaine et animale non pas par l'inexistence de cas mais plutôt par la ressemblance de sa symptomatologie à celle de beaucoup de maladies telles que le paludisme, ou la dengue chez l'homme ou la peste équine chez les chevaux. Les études cliniques rapportées ici sont donc celles décrites en Europe et aux USA.

7.1 Symptômes

7.1.1 L'homme

Seule une faible proportion des infections humaines sont symptomatiques, avec des maux de tête, de la fatigue, des courbatures et des ganglions lymphatiques hypertrophiés typiques de beaucoup de maladies fébriles. Il apparaît parfois une éruption cutanée abdominale. Environ une personne sur 150 développe un ou plusieurs signes de la maladie neuro-invasive : raideur de la nuque, stupeur, désorientation, coma, tremblements, convulsions, faiblesse musculaire et paralysie. Cela peut se produire chez les personnes de tous âges, mais ceux de plus de 50 ans sont les plus à risque (Hayes *et al.*, 2005b). Au cours des cinq dernières années, 4,8% de cas confirmés en laboratoire des infections cliniques rapportées aux Etats-Unis ont été mortels. Il a été rapporté récemment aux USA des effets à long terme sur le rein notamment l'apparition de maladies chroniques du rein chez 40% de patients ayant contracté la maladie (Nolan *et al.*, 2012).

7.1.2 Le cheval

Les infections symptomatiques chez les chevaux sont également rares et généralement bénignes, mais peuvent entraîner des maladies neurologiques, y compris l'encéphalomyélite fatale (Cantile *et al.*, 2000). Une proportion plus élevée des chevaux infectés développent une encéphalite en rapport avec les cas humains. Des études expérimentales ont montré qu'environ 10% des chevaux infectés développent la maladie clinique (Bunning *et al.*, 2002). Chez les chevaux naturellement infectés, l'infection par le virus West Nile provoque généralement des changements d'attitude (sommolence, apathie, dépression, ou une hyperexcitation) et des signes neurologiques, y compris les fasciculations musculaires et une parésie ou une paralysie des membres.

7.1.3 Les oiseaux

Les oiseaux infectés par le virus West Nile présentent également tout un éventail de signes cliniques allant de l'absence de maladie à la mort. La mortalité attribuée à l'infection par le virus West Nile en Amérique du Nord a été signalée chez 198 espèces d'oiseaux en 2002 (Komar, 2003). Certaines espèces d'oiseaux, en particulier les corvidés, sont très sensibles au virus avec très souvent une issue fatale (McLean *et al.*, 2002; Komar *et al.*, 2003a). Les signes généraux de l'infection sont la léthargie, le décubitus, et dans certains cas, des hémorragies (Komar *et al.*, 2003a).

En Europe, la mortalité des oiseaux liée à l'infection par le virus West Nile est rare (Hubalek & Halouzka, 1999). Cependant, de fortes mortalités d'oiseaux ont été notées lors de l'épizootie survenue en Israël avec la lignée I en 1998 (Malkinson *et al.*, 2002). Contrairement à ce qui se passe aux Etats Unis où les fortes mortalités d'oiseaux révèlent la circulation du virus (Steele *et al.*, 2000), en Europe les signes neurologiques chez les chevaux sont les seuls indicateurs de la circulation locale du virus.

Ce contraste dans la virulence de part et d'autre de l'Atlantique est dû au fait que le virus appartenant à la même lignée I que celle ayant été isolé en Israël en 1998 est nouvellement introduit aux USA, avec une population aviaire totalement naïve, alors qu'en Europe la maladie est endémique (Lanciotti *et al.*, 1999; Buckley *et al.*, 2003).

7.1.4 Les autres vertébrés

Les manifestations cliniques de la fièvre West Nile sont peu connues chez les autres vertébrés, comme les reptiles, les amphibiens et les autres mammifères. En Amérique du Nord, des alligators captifs sont morts de l'infection par le virus West Nile entre 2001 et 2002 (Miller *et al.*, 2003). Sur plus de 10000 alligators captifs, 250 sont morts en 2001 et 1000 en 2002 dont en majorité des jeunes. Les symptômes dominants étaient nerveux tels que des spasmes au cou et une perte de contrôle des mouvements.

Des cas de malades isolés ont été observés chez le mouton (Tyler *et al.*, 2003), les alpagas (Yaeger *et al.*, 2004), le chien et le loup (Lichtensteiger *et al.*, 2003). Dans tous ces cas, la maladie a été toujours caractérisée par des signes neurologiques progressifs tels que la faiblesse musculaire, l'ataxie, les convulsions, la paralysie, le torticolis, l'hyperesthésie, le décubitus. Chez le loup, la cécité a également été observée. Chez le chien malade décrit par Lichtensteiger *et al.* (2003), de nombreux autres signes cliniques ont été observés, tels que la polydipsie, l'écoulement nasal et oculaire, la diarrhée, les douleurs abdominales, le ptyalisme et la dyspnée.

7.2 Les lésions

7.2.1 Lésions macroscopiques

Chez les oiseaux, certaines lésions sont évocatrices de la maladie mais ne sont pas pour autant pathognomoniques car communes à plusieurs autres maladies. Il s'agit de l'émaciation, la splénomégalie, l'hépatomégalie, les lésions cardiaques et les encéphalites. Chez les chevaux, le cerveau ne présente pas de lésions macroscopiques.

7.2.2 Lésions microscopiques

Chez les oiseaux, elles varient selon le degré d'atteinte des organes. Des images d'infiltration de lymphocytes et d'hétérophiles dans les capillaires du cerveau et des méninges sont assez évocatrices en cas d'affection du système nerveux central (Miller *et al.*, 2003). Chez les chevaux, elles sont caractérisées par des infiltrations péri-vasculaires multifocales de neutrophiles au niveau du rhombencéphale, de la moelle épinière ou de la microglie avec des hémorragies périvasculaires (Snook *et al.*, 2001).

8 METHODES DE LUTTE

Ici aussi nous allons rapporter l'expérience des pays d'Europe et des Amériques dans la lutte contre la West Nile.

8.1 Traitement

Tout comme la fièvre de la vallée du Rift, il n'existe pas actuellement de traitement spécifique pour la West Nile. Plusieurs études ont démontré l'efficacité de la Ribavirine dans l'inhibition de la réplication *in vitro* du virus West Nile (Anderson & Rahal, 2002; Morrey *et al.*, 2002). Cependant, la ribavirine ne semble pas efficace contre les virus du genre *Flavivirus* dans les modèles animaux (Huggins, 1989). De même, une étude rétrospective sur l'efficacité du traitement avec la ribavirine lors de l'épidémie de West Nile de 2000 en Israël a montré que la survie des patients n'est pas corrélée au traitement avec la ribavirine (Chowers *et al.*, 2001).

8.2 Prophylaxie

8.2.1 Prophylaxie médicale

Vaccins à usage animal :

La prophylaxie médicale repose sur l'utilisation d'un certain nombre de vaccins. Il existe actuellement trois vaccins contre la West Nile pour les chevaux disponibles dans le commerce aux États-Unis et un en Europe.

- Vaccins inactivés: Les vaccins adjuvés, à virus entier inactivé à la formaline, nommés West Nile-Innovator® et Duvaxyn® ont été commercialisés par Fort Dodge Santé Animale (FDAH) aux Etats-Unis et en Europe, respectivement. Le vaccin West Nile-Innovator® a été utilisé à grande échelle aux Etats-Unis en 2002. Bien que le nombre de cas humains de fièvre West Nile n'a pas diminué entre 2002 et 2003, cette vaccination de masse pourrait avoir contribué à la réduction significative des cas équins durant cette période (Granwehr *et al.*, 2004). Depuis lors, les vaccins de deuxième génération suivants sont mis sur le marché :
 - Vaccin à ADN appelé West Nile-Innovator® DNA commercialisé par FortDodge,
 - Vaccin recombinant est basé sur le virus canarypox appelé Recombitek® et commercialisé par Merial (El Garch *et al.*, 2008),
 - Vaccin chimérique fabriqué à partir de la souche vaccinale 17D de la fièvre jaune connu sous le nom PreveNile™, et commercialisé par Intervet (Schering-Plough Animal Health / Merck).

Vaccins à usage humain

Un vaccin à ADN à usage humain est aussi en développement et la phase I des essais cliniques a démontré qu'il induit la production d'anticorps neutralisants (Martin *et al.*, 2007). La technologie ChimeriVax utilisée pour produire le vaccin PreveNile pour les chevaux a été également utilisée pour produire un vaccin humain appelé ChimeriVax West Nile. Ce vaccin sûr et immunogène chez l'homme est actuellement en phase II des essais cliniques (Guy *et al.*, 2010). Sa commercialisation est prévue durant cette décade.

8.2.2 Prophylaxie sanitaire

Les mesures de prophylaxie sanitaire préconisées consistent à lutter contre les vecteurs, aussi bien les adultes que les formes larvaires. Cette lutte, pour être efficace, doit prendre en compte la biologie et l'écologie des arthropodes vecteurs.

La lutte anti-larvaire contre les moustiques consiste à la destruction de leurs gîtes et/ou à leur traitement par des produits chimiques ou des larvicides d'origine biologique (Bs, Bti). Elle est difficile à mettre en œuvre dans les zones où circule la West Nile au Sénégal (Ferlo et région du fleuve Sénégal) du fait de l'étendue, de la diversité et du nombre de gîtes concernés mais aussi du coût financier et de l'impact potentiel de tels traitements sur l'environnement et la faune non cible. En effet, dans ces régions agro-sylvo-pastorales où le fleuve et les mares constituent les principales sources d'approvisionnement des populations humaines et animales en eau, leur destruction ou leur traitement aux insecticides pourrait causer une véritable catastrophe écologique dans ces écosystèmes, et des intoxications chez les humains et les

animaux. Pour les mêmes raisons et aussi en raison d'une persistance d'efficacité très limitée, la lutte adulticide paraît difficile à mener dans le contexte Sénégalais.

Les mesures de protections individuelle comme l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides qui ont permis de diminuer considérablement la transmission du paludisme chez l'homme, restent difficilement envisageable pour lutter contre les moustiques vecteurs de la West Nile dans la mesure où ils sont, pour la plus part, zoophiles et exophages (Ba *et al.*, 2006; Fall *et al.*, 2011; Fall *et al.*, 2012), voire pour certains comme les *Aedes* à activité de pique diurne. Les seules mesures de prévention concrètement proposées aux USA et en Europe contre les vecteurs de la West Nile reposent sur l'usage de répulsifs cutanés et la non exposition des espèces cibles (homme, cheval) aux sites et heures d'activités des moustiques ; les méthodes de lutte adulticides étant réservées aux seules épidémies avec une efficacité qui reste toutefois limitée (Carney *et al.*, 2008; Elnaiem *et al.*, 2008; Lothrop *et al.*, 2008).

En cas d'épidémie de West Nile, le traitement aux insecticides des animaux domestiques sensibles (chevaux) pourrait participer à lutter contre les vecteurs (Diallo *et al.*, 2008). Cependant, l'efficacité de cette forme de lutte pourrait être freinée par son coût élevé et sa mise en œuvre difficile dans les régions endémiques du Sénégal. De plus, les conséquences d'une lutte chimique sur l'environnement et la faune non cible ne seraient pas négligeables.

CHAPITRE 2 : LES ZONES D'ETUDE

Le travail présenté dans ce document a été réalisé à Ross-Béthio situé dans le Delta du fleuve Sénégal et à Barkédji situé dans la région du Ferlo (figure 1).

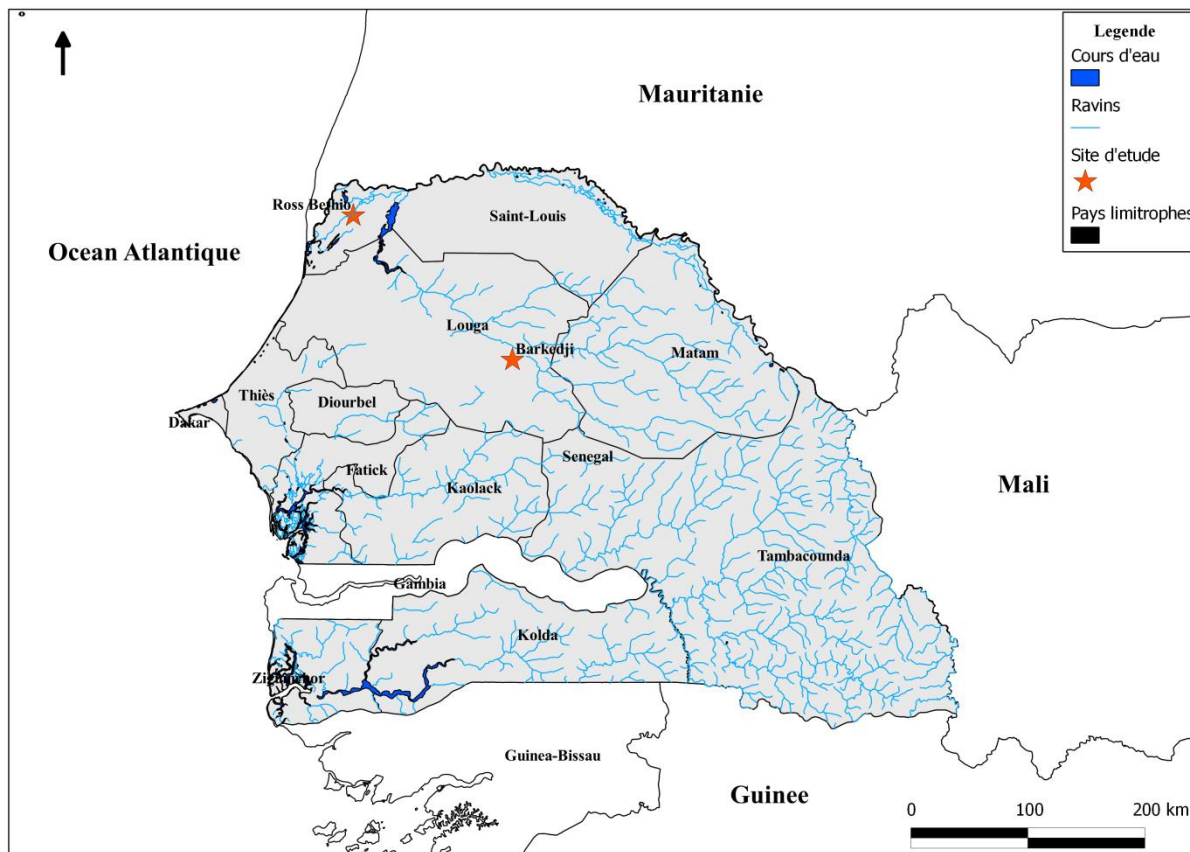


Figure 1: Carte du Sénégal avec la localisation des régions de Barkédji et de Ross-Béthio

1. LA REGION DE BARKEDJI

1.1 Situation géographique

L'arrondissement de Barkédji (15,1678 N, 14,5207 W) est située dans la région centre du Sénégal dans le département de Linguère (Région de Louga), dans la zone sahélienne du Ferlo (figure 1). Elle est limitée à l'Est par Ourossogui, à l'Ouest par la commune de Linguère, au Nord par Dodji et au Sud par les villes de Kaffrine, Koupentoum et Gossas. Elle compte quatre communautés rurales (Barkédji, Thiargny, Gassane et Thiel) et s'étend sur une superficie d'environ 8 407 Km² peuplée par environ 52 000 habitants d'où une densité faible de 6,17 habitants / Km².

Le relief est dans son ensemble plat. Les altitudes extrêmes sont de l'ordre de 100 m pour la limite supérieure et d'environ 10-15 m pour la limite inférieure au niveau de vastes plateaux. En effet, le Ferlo appartient au domaine des vastes plateaux sableux très monotones, qui

s'étendent sur la plus grande partie du Sénégal et qui occupent le bassin sédimentaire du Secondaire et du Tertiaire. Ce bassin a subi plusieurs épisodes transgressifs et régressifs qui ont régi la sédimentation de ce dernier. Les sols de texture sableux sont de type isohumique hydromorphe, sablo-argileux ou gravillonnaires et à affleurements latéritiques. Barkédji est parsemée de dépressions argileuses par endroit à l'origine des mares temporaires qui se remplissent en saison des pluies. Ces mares temporaires et le forage implanté sur place constituent une importante réserve d'eau palliant au manque fréquent de cette denrée vitale dans cette zone. La durée de mise en eau des mares temporaires dépend à la fois du régime pluviométrique annuel et de la concentration en bétail de la zone. Aucun système hydrographique permanent ne dessert actuellement la zone du Ferlo, seules existent des vallées fossiles, reliques des anciens cours d'eaux qui coulaient dans la région.

1.2. Climat et végétation

1.2.1. Le climat

Le climat au Ferlo est influencé par trois masses d'air différentes que sont les alizés maritimes, l'harmattan et la mousson. Le climat est de type sahélien marqué par deux saisons : une saison des pluies de juin-juillet à octobre et une saison sèche de novembre à mai-juin selon l'année. La pluviométrie moyenne annuelle varie entre 300 et 400 mm.

Les vents d'harmattan, ajoutés à la forte continentalité de la région sont à l'origine des températures généralement élevées en saison sèche. Des variations importantes de températures sont observées dans cette zone avec des minimales en décembre, janvier et février et des maximales en avril, mai et juin. Durant l'hivernage, les pluies atténuent les températures.

Les pluies sont également à l'origine de l'humidité relative observée entre juillet et octobre. Durant la saison sèche, des variations importantes de l'hygrométrie sont enregistrées au cours de la journée avec des maxima vers le lever du jour et des minima en début d'après midi.

1.2.2. La végétation

Le manque d'eau dans la région fait que les paysages sont typiques du Sahel, caractérisés par la prédominance de sols sableux sur lesquels se développe un tapis de graminées annuelles, parsemés d'arbustes et de petits arbres souvent épineux. Ces paysages dénommés par leur nom vernaculaire selon Raynaut *et al* (1997) rapporté par Pin-Diop (2006) sont les suivants :

- le seeno* est une steppe arbustive sur dune et inter-dune (substrat sableux), dominée par les espèces ligneuses soudaniennes *Balanites aegyptiaca*, *Guiera senegalensis*, *Combretum glutinosum* et *Sclerocarya birrea*. Cette formation est propice à l'agriculture et

offre une productivité fourragère élevée, grâce aux bonnes propriétés hydriques des sols sableux. Elle est cependant sensible à l'érosion éolienne et au surpâturage.

- le sangre* est une steppe arbustive croissant sur les affleurements de cuirasse latéritique ; *Pterocarpus lucens*, *Sterculia setigera*, *Commiphora africana*, *Grewia bicolor* sont les espèces dominantes. Ses faibles réserves hydriques, dues à la porosité du sol, le rendent impropres à l'agriculture, mais pas au pâturage.

- le baldiol* est une steppe arborée poussant dans les dépressions hydromorphes, à substrat argilo-sableux et caractérisée par *Acacia seyal*, *Adansonia digitata*, *Balanites aegyptiaca*, *Boscia senegalensis*. La pression pastorale y est importante en saison des pluies. Des plantes aquatiques comme les nénuphars, les lentilles d'eau, les laitues d'eau couvrent la plupart des mares en fin de saison des pluies (Photo 1).



Photo 1: Mare de Kangaledji en eau recouverte de plantes aquatiques (nénuphars)

(Cliché A. Diaïté 2004)

1.3. La population

Les 52 000 habitants permanents de Barkédji sont majoritairement constitués de pasteurs Peuls (Photo 2) nomades ou sédentaires, pour qui l'élevage représente l'activité la plus importante, même si certains s'adonnent à l'agriculture vivrière. Les Peuls vivent dans des campements regroupant 3 à 10 familles souvent unies entre elles par des liens de parenté. Chaque famille dispose d'une concession particulière mais la gestion du bétail se fait souvent de manière commune dans un même campement. Ces peuls peuvent être sédentaires, c'est le

cas des grands villages, ou transhumants en saison sèche d'où l'existence de campements temporaires.



Photo 2: Jeune pasteur Peul conduisant son troupeau à une mare temporaire pour l'abreuvement. (Cliché AG Fall 2006).

Des agriculteurs Wolofs et Sérères sont également présents autour de Barkédji. Les Wolof pratiquent souvent l'agriculture extensive, avec une rotation annuelle des cultures de mil et d'arachide, interrompue par une courte période de jachère. L'élevage pour ces populations se limite souvent au petit bétail. Les Sérères s'adonnent beaucoup plus aux cultures de subsistances qu'à la culture de l'arachide et l'élevage est bien combiné à l'agriculture. Les troupeaux servant à la fumure des champs, à l'approvisionnement en lait, les animaux font, par ailleurs, également office de caisse d'épargne (Weicker, 1993).

Les Maures sont les moins représentés.

En saison pluvieuse, la population augmente en raison de l'arrivée de pasteurs. Cette cohabitation entre pasteurs et agriculteurs, datant du siècle dernier, est souvent source de nombreux conflits, que les autorités essaient tant bien que mal de gérer.

1.4. L'élevage

L'élevage de bovins et de petits ruminants est massivement présent sur tout le territoire en particulier dans la zone du Ferlo. L'élevage à Barkédji est majoritairement extensif et la répartition de l'eau dans la zone fait que l'on rencontre deux types d'élevages.

1.4.1. L'élevage pastoral

Ce type d'élevage correspond aux types climatiques sahélien et sahélo-soudanien. Ici, la faible pluviométrie, la brièveté de la saison des pluies, la profondeur des nappes phréatiques rendent difficiles l'agriculture sous pluie et les installations permanentes. C'est le type d'élevage dominant à Barkédji. La base de ce type d'élevage est constituée de zébus *Gobra* et de petits ruminants (ovins et caprins). L'élevage pastoral peut être subdivisé en deux sous-types qui sont d'une part l'élevage pastoral pur qui concerne principalement l'ethnie Peul, et d'autre part le système agropastoral qui concerne la majorité des autres ethnies et où l'éleveur mène parallèlement une activité agricole. Ce type d'élevage est majoritairement transhumant et l'ampleur des déplacements est conditionnée par la survie des pâturages et des cours d'eau durant l'année. Ces déplacements du bétail d'une localité à une autre peuvent favoriser la contamination de zones indemnes lorsque les troupeaux sont infectés par des maladies à transmission vectorielle (fièvre de la vallée du Rift, peste équine, fièvre catarrhale ovine, les rickettsioses...) et que des vecteurs potentiels de ces maladies existent dans ces zones.

1.4.2. L'élevage sédentaire

C'est le deuxième type d'élevage que l'on rencontre à Barkédji. Son importance est très minime par rapport à l'élevage pastoral. Il est favorisé par l'implantation de forages et l'installation progressive dans la zone d'agriculteurs Wolofs et Sérères qui pratiquent une agriculture extensive avec une rotation annuelle des cultures de mil et d'arachide interrompue par des périodes de jachère. Dans cette forme d'élevage, les animaux pâturent librement en saison sèche sur l'ensemble du territoire villageois et sont conduites en hivernage hors des zones de culture. De plus en plus, des particuliers ou des groupements d'intérêt économique (GIE) s'adonnent à l'engraissement des bovins et petits ruminants qu'ils revendent plus tard comme animaux de boucherie.

Les chevaux et les ânes sont présents en grand nombre et servent au transport des personnes et des biens et aux travaux champêtres dans les zones agricoles. Ces animaux sensibles à l'infection au virus West Nile sont laissés en divagation pendant la nuit et se retrouvent le plus souvent aux bords des mares pour paître et s'abreuver. Ces endroits constituant des lieux privilégiés de rencontre entre hôtes et vecteurs.

1.4.3. L'avifaune

A notre connaissance, peu d'études ont été publiées spécifiquement sur l'avifaune de Barkédji. Morel & Morel (1978) avaient dénombrés à Fété-Olé dans le Ferlo 112 espèces (*Accipitridae* et *Falconidae* exclus) dont 83 espèces éthiopiennes (dont 67 sédentaires et 16 migratrices) et 29 paléarctiques, soit près de 75% d'oiseaux résidents. Cinquante espèces (45% du total) étaient des Non-Passereaux (dont 44 pour la faune éthiopienne) et 62 des passereaux (dont 23 paléarctiques). Il est généralement admis que les passeriformes jouent un rôle principal dans la transmission du virus West Nile. Dans une récente enquête sérologique sur la faune aviaire de Barkédji, 89% des oiseaux capturés étaient des résidents (Chevalier *et al.*, 2009). Les anticorps anti-West Nile ont été détectés sur 13 espèces d'oiseaux dont 8 passeriformes (62%) : 4 résidents et 4 migrants. D'importantes variations saisonnières et annuelles sont notées sur les populations aviaires du Ferlo ; les densités sont généralement maximales au mois de septembre et minimales au mois de mai pour toutes les espèces (résidents comme migrants) (Morel & Morel, 1978).

2. LA REGION DE ROSS BETHIO

2.1. Situation géographique

Créée en 2008 par le décret n° 2008-748 du 10 juillet 2008, la commune de Ross-Béthio (N 16°16'30.1", W 16°08'22.5") est située sur la Route Nationale 2 (RN2) à 50 km de l'Est de la commune de Saint-Louis, dans le département de Dagana (figure 1). Ses limites sont ainsi définies dans le décret : au Nord par le village de Odabé Nawar 2, au Sud par le village de Odabé Ndity, à l'Est par le village de Raïnabé 1 et à l'Ouest par le village de Thilène.

Les villages de Raïnabé 1, Odabé Ndity, Odabé Nawar 2, Ouroulbé Bégaye et Ndioross sont inclus dans le périmètre communal et sont devenus, par conséquent, des quartiers de la commune.

L'inclusion de ces villages dans le périmètre communal offre à Ross Béthio, une superficie estimée à 122 km² posant ainsi un réel problème de précision de ses limites réelles. Mais également justifie la faiblesse de la densité de sa population qui est de 75 habitants / km², bien qu'elle soit une des rares nouvelles communes ayant enregistré une taille de population aussi importante : 9 250 habitants. Cette population est inégalement répartie dans l'espace communal car seuls les quartiers issus du village originel ont des effectifs qui dépassent 1 000 habitants.

L'évolution géomorphologique de la commune de Ross-Béthio laisse apparaître deux zones distinctes en fonction de leur emplacement par rapport au *Grand Lampsar* (affluent du fleuve Sénégal) : la zone *Walo* et la zone *Diéri*. Le *Walo*, plus proche du *Grand Lampsar*, est constitué pour sa plus grande partie de zones inondables et agricoles et le *Diéri*, plus éloigné du *Grand Lampsar* est voué à l'élevage et à l'agriculture sous pluies. Le *Walo* est constitué de formations alluviales d'argile et d'argile sableux tandis que le *Diéri* est constitué de sols sableux brun-rouges qui ne sont jamais inondables. En effet, le *Walo* renferme des terres humides propices à la culture irriguée. Ces terres, plus ou moins argileuses, d'origine alluvionnaire, sont classées en fonction de leur situation par rapport aux crues et aux fréquences d'inondations :

- *Hollaldé* sont des sols lourds avec 60% d'argile formés par l'accumulation de dépôts fluviaux lors de la décantation des eaux de crue,
- *Falo* sont les taluds des berges du lit du fleuve,
- *Fondé* sont les bourrelets des berges et sont surtout sableux (70% de sable et 30% d'argile).

Une bonne partie de ces terres sont pour la plupart des sols halomorphes contenant des sels solubles.

Le *Diéri* renferme des sols sablonneux à 85 % (*Dior*), plus ou moins dégradés, mais encore aptes aux cultures sous pluies. Ces sols fins et légers sont aptes à la culture du mil, de l'arachide, du niébé, des cultures maraîchères et de l'arboriculture.

Le *Grand Lampsar* (Photo 3) est la principale ressource hydrique de la commune de Ross-Béthio. Cependant, on y trouve également plusieurs mares temporaires à faible capacité de rétention qui se mettent en eau surtout pendant l'hivernage (Mame Makane, Mame Birahim, Weydou Sarène, Weydou Ndiobo, etc.).



Photo 3: *Grand Lampsar*, affluent du fleuve Sénégal arrosant Ross-Béthio
(Cliché AG Fall 2008)

1.2. Climat et végétation

1.2.1. Le climat

Le climat est de type sahélien tropical et est caractérisé par deux types de vent : l'Alizé frais et humide de novembre à février et l'Harmattan, vent continental chaud et sec de mars à juin. Les températures moyennes annuelles sont élevées et relativement constantes avec cependant l'influence adoucissante des alizés maritimes. La pluviométrie est faible et irrégulière. Sur les 10 dernières années, la moyenne pluviométrique annuelle est d'environ 150 millimètres. La saison des pluies dure 03 mois (de juillet à septembre) et la saison sèche 09 mois (octobre-juin) (Mairie-de-Ross-Bethio, 2011).

1.2.2. La végétation

La végétation locale peut être de type azonal puisqu'elle dépend des conditions spécifiques d'inondation qui déterminent les zones du *Walo* et du *Diéri*.

Les sols hydromorphes à tendance argileuse du *Walo* présentent une série d'écosystèmes particuliers liés à l'eau, appelés hydrosères. Ils évoluent selon la hauteur d'eau. Les zones inondées en permanence sont colonisées par des espèces telles que *Tamarix senegalensis* (*Geudj*) ou *Cressa crateva* ainsi que par *Nymphaea lotus*, *Echinochloa colona*, *Vossia cuspidata*, *Sporobulus robustus* (*n'djibiss*), *Scirpus sp.* Ces zones subissent actuellement la

prolifération des végétaux aquatiques envahissants du fait de la construction de barrages et d'endiguements.

Dans les zones inondées régulièrement, sur les sols à tendance argileuse, la strate arborée est essentiellement composée de :

- Mimosaceae : *Acacia nilotica* (Gonakiés), *Acacia adansonii* (Nebane), *Acacia tortilis* ;
- Gygnophyllaceae : *Balanites aegyptiaca* (Sump).

Dans la zone du *Diéri*, la steppe est la formation végétale naturelle (CSE, 2002) avec :

- des graminées annuelles en tapis herbacé : *Schoenefeldia gracilis*, *Cenchrus biflorus* (Khakham), *Eragrostis sp* (Salgouf), *Brachiaria sp* (Baket), *Chloris prierii*, *Aristida mutabilis*, *Andropogon gayanus*...
- des épineux pour la strate ligneuse (*Acacia tortilis*, *Acacia senegal* (Verek), *Acacia seyal* (Surur), *Balanites aegyptiaca* (Sump))....

Sur les sols *deck* *deck-dior*, la strate arborée est composée de *Acacia raddiana* (Sêng), *Adansonia digitata* (Baobab), *Prosopis juliflora* (Dakhar Toubab)...

La strate arbustive est essentiellement constituée de : *Combretum glutinosum* (Ratt), *Boscia senegalensis* (Ndiandam), *Bauhinia rufescens* (Rând), *Salvadora persica* (Ngaw), *Calotropis procera* (Poftan), *Grewia bicolor* (Kel)....

On retrouve au niveau du tapis herbacé *Schoenefeldia gracilis* (Genu golo), *Cassia obtusifolia*, *Eragrostis tremula* (Salgouf), *Dactyloctenium aegyptium* (Ndanga)...

Sur les sols *Dior*, la strate arborée est représentée par l'*Acacia albida*, tandis que les arbustes principaux sont *Guiera senegalensis* (Nguer), *Tamarix senegalensis* (Ngédj), *Salvadora persica* (Ngaw).... La strate herbacée est composée de *Leptadenia hastata* (Thiakhat), *Cenchrus biflorus* (Khakham), *Euphorbia hirta* (Mbal)....

1.3. La population

D'après les résultats de l'enquête auprès des ménages réalisée en 2011 (Mairie-de-Ross-Béthio, 2011), la population totale de la commune de Ross-Béthio s'élève à 9250 habitants avec une légère domination des hommes 4775 (soit 51, 6 %) par rapport aux femmes 4475 (soit 48, 4 %).

La structure de la population laisse apparaître une population très jeune. En effet, les moins de 35 ans représentent 78 % de la population avec 38 % pour la classe d'âge des enfants (0-14 ans). Quant aux adultes (36-59 ans), ils représentent 17 % de la population totale contre 5 % pour les personnes âgées.

Par ailleurs, Ross-Béthio se caractérise par sa diversité ethnique. Les principales ethnies qu'on y rencontre sont les Wolofs (45 %), les Peuls (40 %), les Maures (10 %), les Sérères (1 %) et autres (3 %). Il connaît une évolution démographique importante du fait des opportunités socio-économiques offertes par l'agriculture (surtout riziculture) qui demeure la principale activité occupant 62 % de la population active. Les autres activités socio-professionnelles pratiquées dans la commune sont l'élevage (14 %), le commerce (10 %) et le transport (9 %).

1.4. L'agriculture et l'élevage

L'agriculture dans la commune de Ross-Béthio est essentiellement basée sur le système irrigué (Photo 4) grâce à l'intervention dans la zone de la Société d'Aménagement des Eaux du Delta (SAED). Néanmoins, en raison de la diversité des agro-écosystèmes, il y est également pratiqué les cultures sous pluie et les cultures de décrue. Le riz occupe environ 80% des surfaces cultivées (culture de contre saison chaude et culture en hivernage) et produit des rendements qui varient entre 5 et 6 tonnes à l'hectare. Les surfaces aménagées pour la culture du riz se trouvent pour l'essentiel dans le *Walo* où les sols sont argileux.



Photo 4: Parcelles de riz irriguées dans la commune de Ross-Béthio (cliché A. Diaïté 2005)

Les cultures maraîchères occupent une place de plus en plus importante dans le calendrier cultural de la région. En effet, elles tirent profit des conditions de culture du riz (intensification) avec lequel elles partagent les parcelles dans le temps et dans l'espace. L'industrialisation de la filière tomate, combinée aux cultures de grande consommation que constituent l'oignon et le chou, ont permis d'asseoir une solide filière maraîchère.

L'élevage n'est pas très développé dans la commune. Il reste une activité secondaire et domestique. Les besoins de la commune sont satisfaits dans une certaine mesure par les éleveurs ruraux pour les bovins et les petits ruminants, et pour les produits avicoles par les aviculteurs de Dakar et de Saint Louis. L'élevage bovin et celui des petits ruminants sont principalement pratiqués par les Peuls ; les autres ethnies en font des activités secondaires. Toutefois, l'élevage Peul reste fortement ancré dans des considérations culturelles en ce sens qu'il relève plus de signes de rang social que d'une activité réellement productive. Le cheptel est composé d'ovins, de caprins, d'équins, d'asins et de volaille. Les équins et asins servent au transport des personnes et des biens mais aussi au ravitaillement des populations en eau du fait du faible taux d'accès (36,5%) au réseau domestique d'approvisionnement en eau potable (Mairie-de-Ross-Bethio, 2011). Ils sont également utilisés dans les travaux champêtres. Les sous produits rizicoles servent généralement à l'alimentation du bétail.

1.5. L'avifaune

Le Delta du Sénégal est l'une des plus importantes zones humides riches en nourriture situées en bordure immédiate du désert du Sahara. De nombreuses espèces d'oiseaux migrateurs paléarctiques (notamment les Anatidés, les Ardéidés et les Limicoles comme les tourterelles, les pigeons, les cailles et gangas, les canards (souchet, à dos blanc et pilet), les bécassines, les oies de Gambie et d'Egypte...) viennent y nicher, comme des oiseaux tels que le Pélican Blanc, les Cormorans, le Héron bihoreau, le Dendrocygne veuf, le Dendrocygne fauve, l'Ibis falcinelle, le Flamant rose et le Flamant nain. Le patrimoine forestier de l'Etat concentre 95% des oiseaux, en particulier au Parc National des Oiseaux du Djoudj (PNOD) (Photo 5), inondé à partir du mois d'octobre jusqu'au mois d'avril grâce à des ouvrages de contrôle du niveau de l'eau, puis asséché. 160 espèces parmi les 370 recensées au Djoudj sont protégées par les conventions de Bonn (CRDI, 2005).



Photo 5: Populations d'oiseaux séjournant dans le Parc National des Oiseaux du Djoudj

(Cliché A Diaïté2005)

La réserve de Ndiaël située au nord de la commune de Ross-Béthio présente un important potentiel avifaunistique mais il est délaissé et non valorisé (CRDI, 2005).

La grande diversité et les grandes densités de l'avifaune, la présence de gîtes favorables au développement des vecteurs et l'importance des flux animaux migratoires font du Delta une région à forte activité du virus West Nile.

DEUXIEME PARTIE : ECOLOGIE DU VIRUS DE LA FIEVRE WEST NILE AU SENEGAL

La transmission vectorielle d'un virus est une interaction dynamique entre le virus, l'arthropode vecteur et l'hôte vertébré (mammifères, oiseaux, reptiles, batraciens, hommes) dans un environnement donné. Dans le cas de la West Nile, cela suppose donc la présence simultanée de tous les acteurs intervenant dans le cycle épidémiologique de la maladie dans un environnement favorable.

Dans cette seconde partie, comprenant deux chapitres (Chapitres 3 et 4), nous présentons dans le chapitre 3 une étude de la circulation du virus West Nile dans le Delta du fleuve Sénégal, basée sur l'hypothèse selon laquelle la période à haut risque de transmission commence avec l'arrivée des oiseaux migrateurs en provenance d'Europe à travers les grands flux migratoires. Pour ce faire, nous avons mis en place trois poulaillers sentinelles sur lesquels des prélèvements de sang ont été effectués sur les poulets toutes les deux semaines pour suivre la dynamique des séroconversions. En plaçant les poulaillers à des distances variables du *Grand Lampsar* (affluent du fleuve Sénégal arrosant la région), principal gîte de reproduction des vecteurs et de nichage des migrateurs d'eau douce, nous avons circonscrit notre étude aux zones les plus à risque. Ensuite, nous avons parallèlement procédé à des piégeages des vecteurs qui viennent piquer les poulets au niveau de ces poulaillers pour pouvoir identifier les vecteurs potentiellement responsables des séroconversions observées. Concomitamment, des captures ont été également faites sur un piège à appât cheval pour recenser les vecteurs qui piquent à la fois les oiseaux et les chevaux. Les séances de capture ont été effectuées tous les mois au même moment que les prélèvements de sang. Nous avons aussi étudié le comportement alimentaire saisonnier des vecteurs potentiels vis-à-vis des acteurs intervenant dans le cycle épidémiologique de la maladie en relation avec des paramètres environnementaux comme la température et l'humidité relative. Les résultats de ces études font l'objet d'une publication en préparation et d'une publication dans *Parasites and Vectors* (Fall *et al.*, 2011) toutes deux intégrées dans le manuscrit. Dans le chapitre 4, nous avons étudié le comportement trophique d'un probable vecteur pont de la West Nile dans le contexte du Ferlo : *Aedes vexans arabiensis*. En partant de femelles gorgées collectées aux bords de deux mares temporaires dont les repas ont été analysés par la technique ELISA, nous avons mis en évidence le rôle de cette espèce dans la transmission de la maladie dans cet écosystème particulier du Sénégal. Cette étude a fait l'objet d'une publication dans *Medical and Veterinary Entomology* (Fall *et al.*, 2012). Enfin, nous présentons une étude réalisée sur des aspects écologiques d'*Aedes vexans arabiensis* dans le système des mares temporaires du Ferlo qui fait l'objet de travaux complémentaires.

CHAPITRE 3 : ACTIVITÉ DU VIRUS DE LA FIEVRE WEST NILE ET VECTEURS POTENTIELS, ROSS BETHIO, SENEGAL

Publication 1 : West Nile virus transmission in sentinel chickens and its potential mosquito vectors, Senegal River Delta, 2008-2009. (en préparation)

AG FALL, A DIAITE, T LEFRANCOIS, R LANCELOT, J BOUYER, MT SECK, L KONATE, O FAYE.

Résumé

La fièvre West Nile est une arbovirose transmise généralement par des moustiques appartenant au genre *Culex*. Les oiseaux sont les principaux hôtes-réservoirs. L'homme et le cheval sont des hôtes accidentels et des impasses épidémiologiques. La maladie est endémique au Sénégal, particulièrement dans la région du Delta du fleuve Sénégal qui héberge le Parc National Ornithologique du Djoudj. Dans le but de connaître les vecteurs impliqués dans la transmission locale et d'évaluer l'incidence de la maladie, des enquêtes entomologiques et sérologiques ont été réalisées à Ross Béthio. Trois poulaillers sentinelles situés à des distances variables (100m, 800m et 1300m) du fleuve et un cheval ont servi d'appâts pour les captures mensuelles de moustiques ; les poulets sentinelles ont été prélevés chaque deux semaines. *Culex neavei* apparaît comme le principal vecteur impliqué dans la transmission du virus aux poulets. Les séroconversions sont survenues entre novembre et décembre avec des taux d'incidence gradient-décroissant du poulailler le plus proche au poulailler le plus éloigné du fleuve avec respectivement 8%, 4% et 0%. Les résultats suggèrent l'utilisation de poulets sentinelles à proximité de biotopes favorables au développement des moustiques et au nichage des oiseaux pour une détection précoce et efficace de la circulation du virus dans les programmes de surveillance de la West Nile dans le Delta du fleuve Sénégal.

Mots clés : poulet sentinelle, virus West Nile, *Culex*, taux d'incidence

1. INTRODUCTION

La West Nile est une arbovirose transmise généralement par des moustiques du genre *Culex*. Les oiseaux migrateurs sont les principaux réservoirs du virus et assurent sa diffusion d'un continent à un autre via les flux migratoires inter-continentaux (Rappole *et al.*, 2000). L'homme et le cheval, bien que sensibles à l'infection au virus West Nile (WNV), sont des impasses épidémiologiques (Hubalek & Halouzka, 1999). La maladie est endémique en Afrique, particulièrement au Sénégal, où plusieurs enquêtes sérologiques (Cabre *et al.*, 2006b; Chevalier *et al.*, 2006; Chevalier *et al.*, 2008b; Chevalier *et al.*, 2009) et entomologiques (Traore-Lamizana *et al.*, 2001; Diallo *et al.*, 2005) l'ont mis en évidence.

Le Delta du fleuve Sénégal, caractérisé par l'existence du Parc National des Oiseaux du Djoudj (PNOD), où séjournent chaque année des centaines de milliers d'oiseaux venant de tous horizons avec des statuts pathologiques différents, pourrait être le lieu d'échanges de pathogènes comme le virus de la West Nile avec la présence de vecteurs compétents. Ces échanges se feraient entre les populations de migrateurs mais aussi entre les populations aviaires autochtones. Dans le PNOD, les oiseaux migrateurs en provenance d'Europe commencent à arriver à partir du mois d'octobre et repartent en mars/avril de l'année suivante (Morel & Roux, 1966). Cependant, ni la période de grande transmission de la West Nile, ni sa durée, ne sont bien connues. Mais on suppose qu'elle est consécutive à l'arrivée des migrateurs et à la pullulation des vecteurs avec une structure d'âge des populations de moustiques favorables à la transmission. Cette période pourrait également coïncider avec l'apparition de cas humains et animaux, d'autant que la maladie est très peu connue des agents de santé publique et vétérinaire.

Cette étude a pour objectif de suivre les dynamiques des vecteurs et des séroconversions au virus West Nile (VWN) de poulets dans trois poulaillers sentinelles situés à des distances variables du Grand Lampsar pour identifier les périodes et zones à fort risque de transmission.

2. METHODOLOGIE

2.1. Sites d'étude

Le protocole a été élaboré pour suivre les dynamiques des séroconversions au virus West Nile de poulets sentinelles (*Gallus gallus domesticus*) et d'identifier les vecteurs potentiellement responsables de la transmission dans trois poulaillers situés à des distances variables du *Grand Lampsar*, principal gîte de production de moustiques. Les poulaillers numérotés P1 (N 16°16'30.1", W 16°08'22.5"), P2 (N 16°16'05.8", W 16°07'59.5") et P3 (N 16°16'49.1",

W16°08'40.7") sont situés à 837m, 1290m et 88m du *Grand Lampsar* respectivement (figure 2).

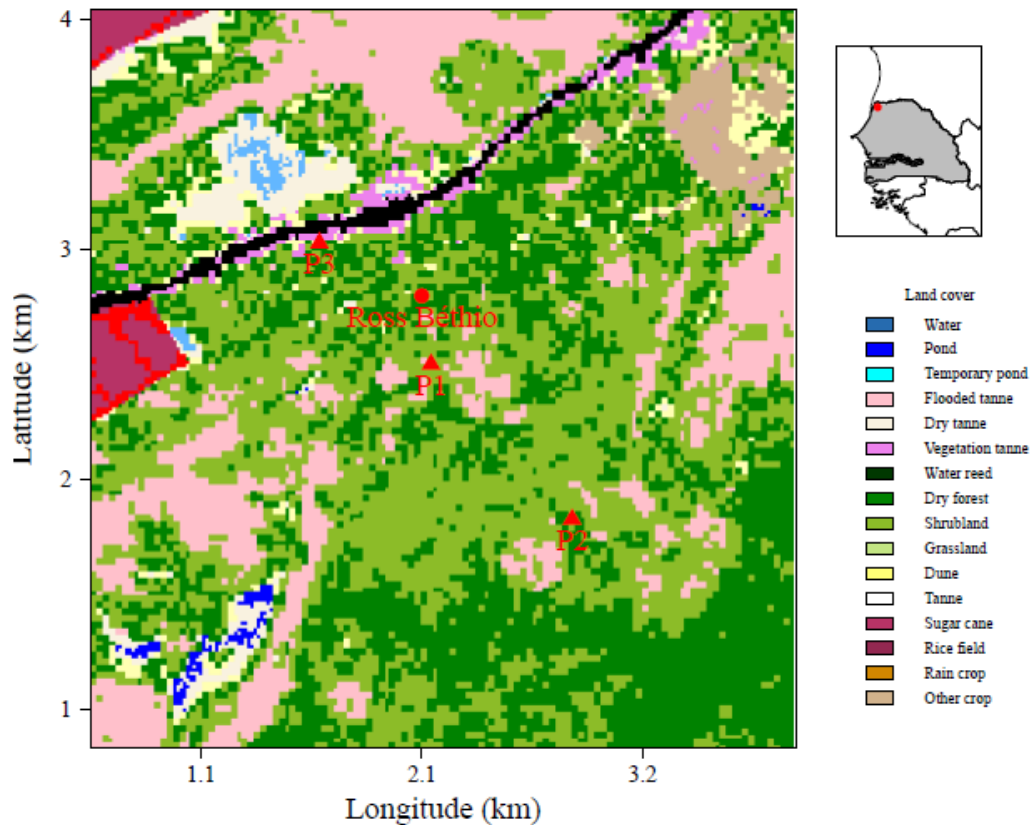


Figure 2: Position des poulaillers sentinelles dans la région de Ross Béthio : *Grand Lampsar* est la ligne violette traversant la carte d'Ouest en Nord-Est, juste au-dessus de Ross Béthio (Source : projet EDEN).

2.2. Enquêtes sérologiques

200 poussins d'un jour d'âge ont été pris au Complexe Avicole de Mbao, vaccinés contre les principales pathologies aviaires (maladie de Gomboro et maladie de Newcastle) et mis sous anti-stress. A leur arrivée au Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires (LNERV), 17 poussins ont été tirés au hasard parmi les 200 et ont été prélevés immédiatement le même jour (J1) pour avoir le statut sérologique de départ. Puis une partie des poussins a été bouclée selon la disponibilité des boucles et l'ensemble des poussins est placé dans un box recouvert par une moustiquaire pour éviter de les exposer aux piqûres de moustiques avant leur transfert à Ross Béthio. L'aliment de démarrage et l'eau sont servis à volonté durant les quatre jours où les poussins séjournèrent au LNERV. Le transfert sur Ross Béthio s'est fait au cinquième jour. Les effectifs de départ sont de 73 poussins, 51 poussins et 55 poussins respectivement pour les poulaillers P1, P2 et P3 (Photo 6).



Photo 6: Poulets sentinelles à J1 (photo à gauche) et à J90 (photo à droite) du suivi dans un poulailler sentinelle à Ross Béthio d'octobre 2008 à janvier 2009 (Clichés AG Fall 2008 ; 2009)

Le suivi est fait entre octobre 2008 et janvier 2009 à raison d'un prélèvement sur tous les sujets tous les 15 jours pour pouvoir détecter précocement les nouveaux infectés. Pendant toute la durée du suivi, l'aliment sera rationné : seuls les besoins quotidiens pour la croissance des oiseaux sont assurés. Les prélèvements de sang sont effectués le matin par ponction à l'aide de seringues stériles de 2,5ml avec aiguille de 23G au niveau de la veine alaire. Pour chaque poulet prélevé, du coton imbibé d'alcool à 90° a été utilisé pour désinfecter la zone de ponction. Le sang prélevé est ensuite versé dans des tubes Eppendorf stériles de 2ml et gardé à température ambiante. Les sérums sont récoltés le soir avec des micropipettes avec embout de 1ml après une bonne exsudation ou après centrifugation si l'exsudation n'est pas complète. Ils sont versés dans des tubes de Nunc de 1,8ml avec la date, les numéros du poulet et du poulailler et sont immédiatement conservés au congélateur à -20°C jusqu'à leur utilisation.

Il n'a pas été possible de faire d'autopsies ni de diagnostic de laboratoire pour élucider les cas de mortalité, pour des raisons logistiques. Cependant, les causes de mortalité recensées sont :

- Surinfection des plaies occasionnées par les boucles,
- Variole aviaire,
- Accidents lors des prélèvements (asphyxie, saignement important, ...),
- Picage.

Les prélèvements ont été effectués aux dates suivantes et le plan d'observation est résumé sur la figure 3.

- J1 : 23/10/2008 prélèvement de 17 poussins choisis sur le lot de 200
- 27/10/08 : Transfert des poussins à Ross Béthio
- J15 : 10/11/2008 (P1 et P3) et 11/11/2008 (P2)

- J30 : 25/11/2008 (P1 et P3) et 26/11/2008 (P2)
- J45 : 10/12/2008 (P1 et P3) et 11/12/2008 (P2)
- J60 : 25/12/2008 (P1 et P3) et 26/12/2008 (P2)
- J75 : 09/01/2009 (P1 et P3) et 10/01/2009 (P2)
- J90 : 25/01/2009 (P1 et P3) et 26/01/2009 (P2)

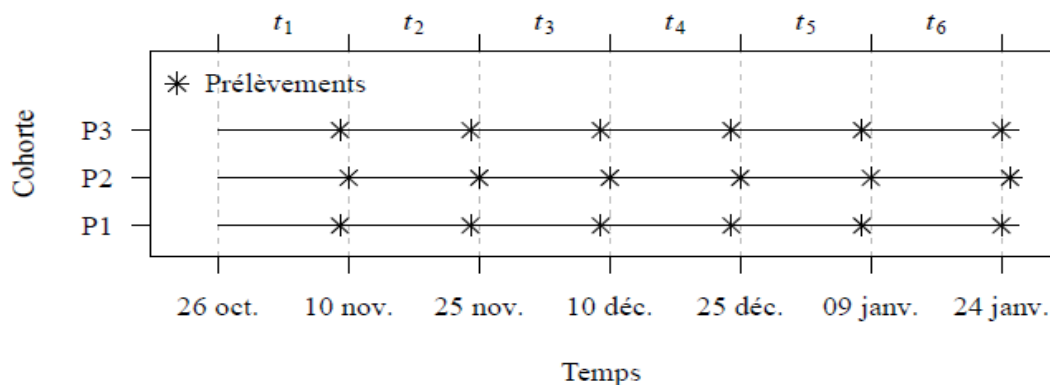


Figure 3: Plan d'observation retenu pour l'étude de l'incidence sérologique de la fièvre West Nile à Ross Béthio d'octobre 2008 à janvier 2009

2.3. Enquêtes entomologiques

Les enquêtes entomologiques ont consisté au recensement mensuel, pendant trois jours consécutifs, de la faune culicienne au niveau des trois poulaillers sentinelles qui ont servi aux enquêtes sérologiques et d'un piège à appât cheval à Ross-Béthio. Le piège à appât cheval est une cage en acier de 2,5 x 1,5 x 2 m de dimensions contenant un cheval et recouvert d'une moustiquaire de 4 x 3,5 x 2,5 m de dimensions, laissant une ouverture d'environ 15 cm qui permet aux moustiques d'y entrer (Photo 7). Ce modèle de piège a été utilisé par Balenghien *et al.* (2006) pour étudier les vecteurs potentiels de la WNV dans un foyer du Sud de la France. Le piège à appât poulets est un bâtiment de 3 x 2 x 1,8 m de dimensions avec des ouvertures grillagées sur les trois côtés permettant aux moustiques d'accéder aux poulets. Il est couvert par une moustiquaire de dimensions 4 m x 3 m x 2,5 m suspendue à environ 15 cm du sol laissant passer les moustiques attirés par l'appât (Photo 7).



Photo 7: Piège à appât cheval (à gauche) et piège à appât poulets (à droite) en fonctionnement à Ross Béthio d'octobre 2008 à janvier 2009 (Clichés AG Fall 2008)

Le piégeage est effectué de 18h à 06h pendant trois jours consécutifs tous les mois (d'octobre 2008 à janvier 2009). Aucune pluie n'a été enregistrée durant la période d'étude, ce qui laisse supposer que les moustiques capturés proviennent majoritairement du fleuve ou des rizières situées à proximité du fleuve. Les moustiques capturés sont récoltés par aspiration et identifiés morphologiquement à l'aide de clés d'identification puis triés par sexe et selon leur état physiologique ie qu'ils soient gorgés ou non.

L'attractivité de chaque piège pour une espèce de moustique a été estimée comme le nombre moyen d'individus de cette espèce de moustique dans un piège donné pour une nuit de piégeage puis rapporté à la moyenne des Densités Apparentes par Piège et par nuit (DAP).

Les moyennes des DAP entre les sites ont été comparé toutes ensemble à l'aide du test de Kruskal-Wallis rang-sum (Hollander & Wolfe, 1973), puis en utilisant un test de Wilcoxon (Hollander & Wolfe, 1973) ou un test non paramétrique de comparaison multiple (NPMC) (Munzel & Hothorn, 2001) lorsque deux groupes ou plus sont comparées respectivement.

Tous les tests statistiques ont été réalisé en utilisant le logiciel R, version 2.10.0 (R Development Core Team, 2010).

2.4. Tests sérologiques

Les sérums de poulets ont été testés au laboratoire par un ELISA de blocage d'épitope, utilisable chez les mammifères et les oiseaux sauvages et domestiques (Blitvich *et al.*, 2003a; Blitvich *et al.*, 2003c). Ce test est largement utilisé, y compris à des fins de surveillance de la fièvre West Nile (Lefrancois *et al.*, 2005; Lefrancois *et al.*, 2006). Il détecte à la fois les IgG et les IgM et peut donc détecter les réactions précoces. Pour les anticorps dirigés contre le virus West Nile, les ELISA IgM détectent généralement des IgM sur poulets à 4-6 jours post

infection, les IgG à partir de 7 jours. Ce test de blocage d'épitope a été testé expérimentalement à 14 jours, mais peut probablement détecter les IgM bien avant.

2.5. Gestions des données sérologiques

Les données ont été entrées dans une base de données relationnelle incluant quatre tables :

1- Cohorte : donnant des renseignements sur chaque cohorte de poussins. Les différents champs sont :

- C_cohorte : identifiant de la cohorte (P1, P2, P3),
- C_eclosion : date d'éclosion des poussins de la cohorte,
- C_debutExpo : date de début d'exposition aux moustiques pour les poussins de la cohorte,
- C_finExpo : date de fin d'exposition aux moustiques pour les poussins de la cohorte (fin du suivi),
- C_longitude : longitude du poulailler abritant la cohorte,
- C_latitude : latitude du poulailler abritant la cohorte.

2- Poulet : donnant l'appartenance d'un poulet à une cohorte, et la date éventuelle de sa sortie du suivi (mortalité ou séroconversion)

- P_cohorte : identifiant de la cohorte (P1, P2, P3).
- P_id : identifiant du poulet
- P_sortie : date éventuelle de sortie du suivi

3- Incidence : donnant la liste des poulets ayant connu une séroconversion West Nile, et la date de la première sérologie positive.

- I_id : identifiant du poulet
- I_datePrel : date de la 1^{ier} sérologie positive.

4- Plan : donnant la liste des dates des prélèvements de sang pour sérologie pour chaque cohorte.

- P_cohorte : identifiant de la cohorte
- P_datePrel : date de la série de prélèvements.

2.6. Calculs d'incidences sérologiques

On ne connaît pas la date exacte de la séroconversion qui est encadrée par la dernière date à laquelle l'animal était encore négatif, et la première à laquelle il a été trouvé positif. Il en va de même pour les dates de mortalité et plus généralement de sortie du suivi qui doivent être prises en compte pour le calcul des effectifs exposés au risque de séroconversion.

Dans ces conditions, il est préférable d'adopter une approche en temps discret, basée sur le calcul de probabilités d'incidence utilisant des diagrammes de Lexis. Les modalités pratiques sont données par Lesnoff. (2007), disponible auprès des auteurs en fichier pdf. Une version anglaise de ce manuel, comportant de nombreuses mises à jour, est également disponible (Lesnoff *et al.*, 2010).

Pour une cohorte de poulets donnée $i = \{1,2,3\}$ et à une date j :

- $j = \{09 \text{ nov.}, 24 \text{ nov.}, 09 \text{ déc.}, 24 \text{ déc.}, 08 \text{ janv.}, 24 \text{ janv.}\}$ pour P1 et P3,

- $j = \{10 \text{ nov.}, 25 \text{ nov.}, 10 \text{ déc.}, 25 \text{ déc.}, 09 \text{ janv.}, 25 \text{ janv.}\}$ pour P2,

on compte le nombre d'animaux présents $n_{i,t}$ et encore séronégatifs.

A la date k (série suivante de prélèvements), on compte :

- $s_{j, j+1}$ animaux présents à j et sortis (mortalité, disparition...) de la cohorte i pendant l'intervalle jk . Chacun de ces animaux est compté pour 0.5 dans les effectifs initiaux à risque :

$$n_{i,j} - \frac{s_{i,jk}}{2},$$

- $m_{i,jk}$ animaux présents à j et qui ont présenté une séroconversion pendant jk . Ces animaux sont exclus des effectifs à risque pour l'intervalle suivant.

Le taux d'incidence $I_{i,jk}$ observé pendant l'intervalle jk est alors :

$$I_{i,jk} = \frac{m_{i,jk}}{n_{i,j} - \frac{s_{i,jk}}{2}}$$

Le taux d'incidence totale I_i observé dans la cohorte i sur l'ensemble de l'étude est :

$$I_i = 1 - \prod_{jk} (1 - I_{i,jk})$$

Pour comparer l'effet du site par rapport aux taux incidences observés, on effectue un test exact de Fisher en prenant comme effectifs à risque la moyenne géométrique des effectifs à risque sur l'ensemble de la période d'étude, et comme nombre de cas le nombre total de séroconversions. L'hypothèse nulle est que la distribution des séroconversions est homogène dans les différents poulaillers sentinelles.

3. RESULTATS

3.1. Sérologiques

La technique ELISA a été réalisée sur 923 sérums de poulets. Aucune séroconversion n'a été observée sur les 17 poussins tirés au hasard à J1 ainsi que sur l'ensemble des trois cohortes à J15. Globalement pour le poulailler 1, trois (3) poulets se sont séropositivés, présentant au diagnostic des anticorps IgM ou IgG dirigés contre le virus West Nile, dont un (1) à J30 et deux (2) à J45. Pour le poulailler 2, aucun positif n'a été observé. Pour le poulailler 3, quatre

(4) poulets se sont séropositivés, présentant également au diagnostic des anticorps IgM ou IgG dirigés contre le virus West Nile, dont trois (3) à J30 et un (1) à J45. Tous les poulets qui se sont séropositivés le sont restés sur toute la campagne soit un total de 29 échantillons positifs sur 923 analysés (3,14 %). Un seul (n°57 du poulailler 3) a disparu des positifs à J75 et à J90 (mort).

- Taux d'incidence observé

Le tableau d'analyse du taux d'incidence sérologique se présente de la manière suivante (Tableau 2) :

Tableau 2: Données disponibles pour le calcul de l'incidence sérologique des anticorps contre le VWN sur des poulaillers sentinelles situés à Ross Béthio (Sénégal) d'octobre 2008 à janvier 2009. Les périodes sont les intervalles bornés par le début d'exposition et les dates de prélèvements de chaque poulailler sentinelle (cohorte).

Cohorte	Période	n_i	s_i	m_i
P1	1	73	0	0
P1	2	73	1	1
P1	3	65	3	2
P1	4	60	1	0
P1	5	59	5	0
P1	6	54	4	0
P2	1	51	0	0
P2	2	51	7	0
P2	3	43	2	0
P2	4	41	1	0
P2	5	40	0	0
P2	6	40	0	0
P3	1	55	0	0
P3	2	55	2	3
P3	3	50	3	1
P3	4	46	4	0
P3	5	42	0	0
P3	6	42	0	0

Pendant la 2^{ième} série de prélèvements (permettant de déterminer le statut sérologique des animaux à l'issue de la 2^{ième} période), 6 poulets de la 1^{ière} cohorte sont morts des suites de la

prise de sang. Ils n'ont pas été considérés comme sortis pendant cette période, car ils ont été exposés pendant toute sa durée et leur statut sérologique a pu être déterminé. Ils n'ont pas été considérés comme exposés au risque pour la 3^{ième} période, ce qui explique le hiatus entre les n_i de la 2^{ième} et 3^{ième} période : $n_{1,3} \neq n_{1,2} - s_{1,2} - m_{1,2}$. Un seul poulet est mort au moment du prélèvement dans la 2^{ième} cohorte, et aucun pour le 3^{ième}.

Le calcul des taux d'incidence sérologique par période et par cohorte donne les résultats suivants (Tableau3) :

Tableau 3: Taux d'incidence sérologique des anticorps contre le VWN dans des poulaillers sentinelles placés à Ross Béthio (Sénégal) d'octobre 2008 à janvier 2009. Les indices $t1$ à $t6$ indiquent les intervalles bornés par le début d'exposition et les dates de prélèvements de chaque cohorte. Le taux d'incidence IT est calculé sur l'ensemble de l'étude.

Cohorte	I_{t1}	I_{t2}	I_{t3}	I_{t4}	I_{t5}	I_{t6}	I_T
P1	0.00	0.01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04
P2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P3	0.00	0.06	0.02	0.00	0.00	0.00	0.08

Toutes les séroconversions se sont produites pendant les périodes t_2 et t_3 , c'est-à-dire entre le 10 novembre et le 10 décembre 2008. L'incidence globale la plus élevée (8%) a été observée pour le poulailler P3, situé à moins de 100 m du *Grand Lampsar*. Le poulailler P1, situé à environ 800 m de ce cours d'eau, a connu une incidence globale de 4%, tandis que le poulailler le plus éloigné de l'eau (1300 m) est resté indemne d'infection par le virus West Nile.

- Test de l'effet du site

Le test ne permet pas de rejeter l'hypothèse nulle ($p\text{-value} = 0,1343$). Le regroupement des sites P1 et P3, les plus proches de *Grand Lampsar*, ne change pas les conclusions.

3.2. Entomologiques

Au total 10192 moustiques répartis en huit espèces appartenant à trois genres ont été capturés dans tous les pièges en 51 nuits de piégeage d'octobre 2008 à janvier 2009 pour les pièges à appât poulets ($N = 36$ nuit-piège) et de septembre 2008 à janvier 2009 pour le piège à appât cheval ($N = 15$ nuit-piège). Les espèces du genre *Culex* ont représenté 94% ($n=9556$) du total des captures. Parmi elles, les espèces dominantes ont été *Culex neavei* avec 51,2% ($n=5218$)

du total des captures et *Culex tritaeniorhynchus* avec 39,5% (n=4023) du total des captures (Tableau4).

Tableau 4: Densité Apparente par Piège par nuit (DAP) des moustiques capturés sur piège à appât cheval et sur pièges à appâts poulets à Ross Béthio. Les valeurs moyennes par piège et par nuit \pm écart-type pour chacune des espèces de moustiques au cours de la période de piégeage sont présentées selon le type de piège (P1 = poulailler 1, P2 = poulailler 2, P3 = poulailler 3, n = nombre de nuits-pièges, 88m, 837m et 1290 m = distance par rapport au *Grand-Lampsar*).

Mosquito species	Horse-baited trap	Chicken-baited traps		
	Ross Béthio (n=15)	P1 (837m) (n=12)	P2 (1290m) (n=12)	P3 (88 m) (n=12)
<i>Culex neavei</i>	176.7 \pm 275.47	44.4 \pm 29.94	23.7 \pm 15.09	145.9 \pm 133.12
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	257.4 \pm 485.02	2.5 \pm 2.65	4.8 \pm 8.27	6.3 \pm 4.27
<i>Mansonia uniformis</i>	2.2 \pm 3.23	0.1 \pm 0.29	0	1 \pm 1.2
<i>Aedomyia africana</i>	0.1 \pm 0.26	0	0	0
<i>Anopheles rufipes</i>	0.1 \pm 0.26	0	0	0
<i>Anopheles pharoensis</i>	29.8 \pm 44.25	0.1 \pm 0.29	0.4 \pm 0.90	1.7 \pm 2.10
<i>Anopheles ziemanni</i>	7.1 \pm 8.67	0	0.2 \pm 0.39	0.5 \pm 1.17
<i>Culex poicilipes</i>	20.1 \pm 26.33	0.1 \pm 0.29	0.1 \pm 0.29	0.9 \pm 1.31

Dans les pièges à appâts poulets, les Densités Apparentes par Piège par nuit (DAP) de *Cx. neavei* et *Cx. tritaeniorhynchus* ont variées en fonction de la distance par rapport au *Grand-Lampsar* ($p = 0,011$ et $p = 0,052$ respectivement) (figure 4). Pour *Cx. neavei*, les DAP sont toutefois significativement différentes entre les sites 2 (1290 m du *Grand Lampsar*) et 3 (d = 88m du *Grand Lampsar*) ($p=0,016$) et peu différentes entre les sites 1 (d = 837m) et 3 (d = 88m) ($p=0,051$). Pour *Cx. tritaeniorhynchus*, les DAP étaient significativement différentes entre les sites 1 (d=837m) et 3 (d = 88m) ($p = 0,025$).

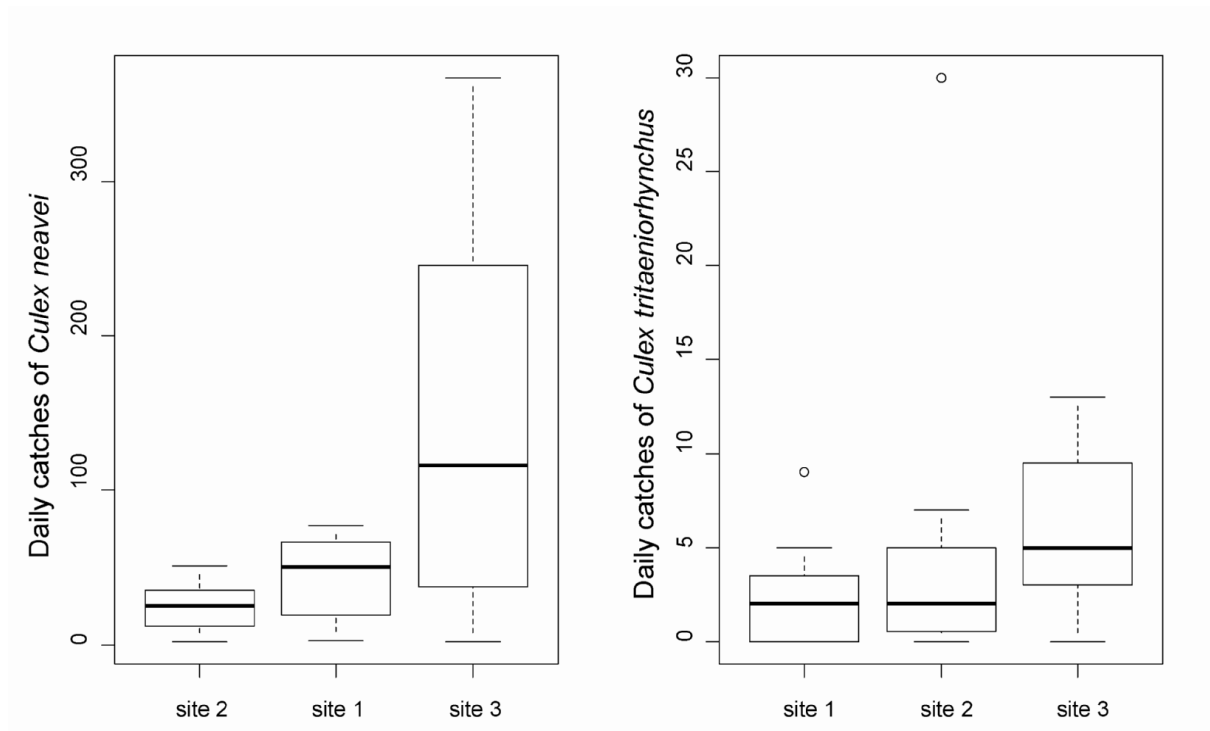


Figure 4: Variations des Densités Apparentes par Pièges par nuit (DAP) de *Culex neavei* et *Culex tritaeniorhynchus* capturés dans les pièges à appâts poulets en fonction de la distance par rapport au Grand Lampsar (site 2 : 1290 m, site 1: 837 m et site 3: 88 m).

Culex tritaeniorhynchus a été mammophile alors que *Cx. neavei* a été attiré à la fois par le cheval et les oiseaux montrant par la même occasion un comportement opportuniste (figure5). Les résultats ne sont pas présentés pour les autres espèces échantillonnées en raison de leur trop faible effectif.

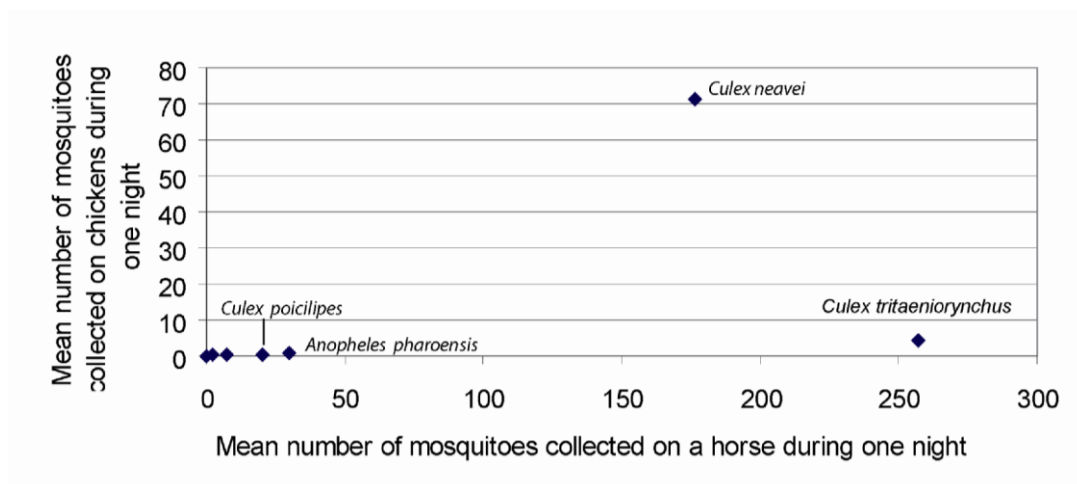


Figure 5: Comparaison des nombres moyens de moustiques capturés par nuit sur piège à appât cheval (axe x) et sur piège à appât poulet (axe y).

De plus, toutes les espèces qui ont été trouvées à la fois sur les pièges à appâts cheval et poulets se gorgent particulièrement bien sur le cheval (plus de 80% de taux de gorgement) alors qu'une partie seulement d'entre elles (en particulier *Cx.neavei* et *Mansonia uniformis*) s'est gorgée à plus de 50% sur les poulets. Seulement 23% des *Cx. tritaeniorhynchus* ont été trouvé gorgés sur les poulets (figure 6).

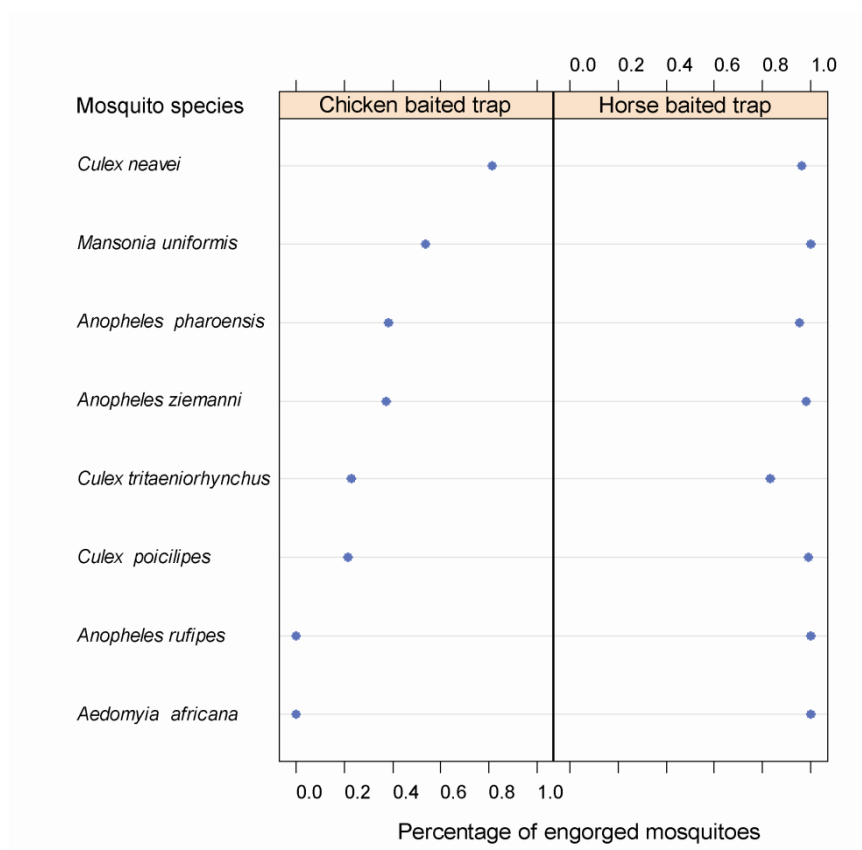


Figure 6: Taux de gorgement des espèces de moustiques capturés dans les pièges à appâts poulets et cheval.

3.3. Relations sérologie-vecteurs potentiels

La figure 7 montre, notamment dans les poulaillers un et trois, que *Culex neavei* pourrait être le principal vecteur susceptible de transmettre le virus aux poulets. Les séroconversions observées sur les poulets sont observées en novembre et décembre à la fin de la saison des pluies concomitantes à l'arrivée des oiseaux migrateurs dans la région à partir du mois d'octobre et à la pullulation des moustiques vecteurs.

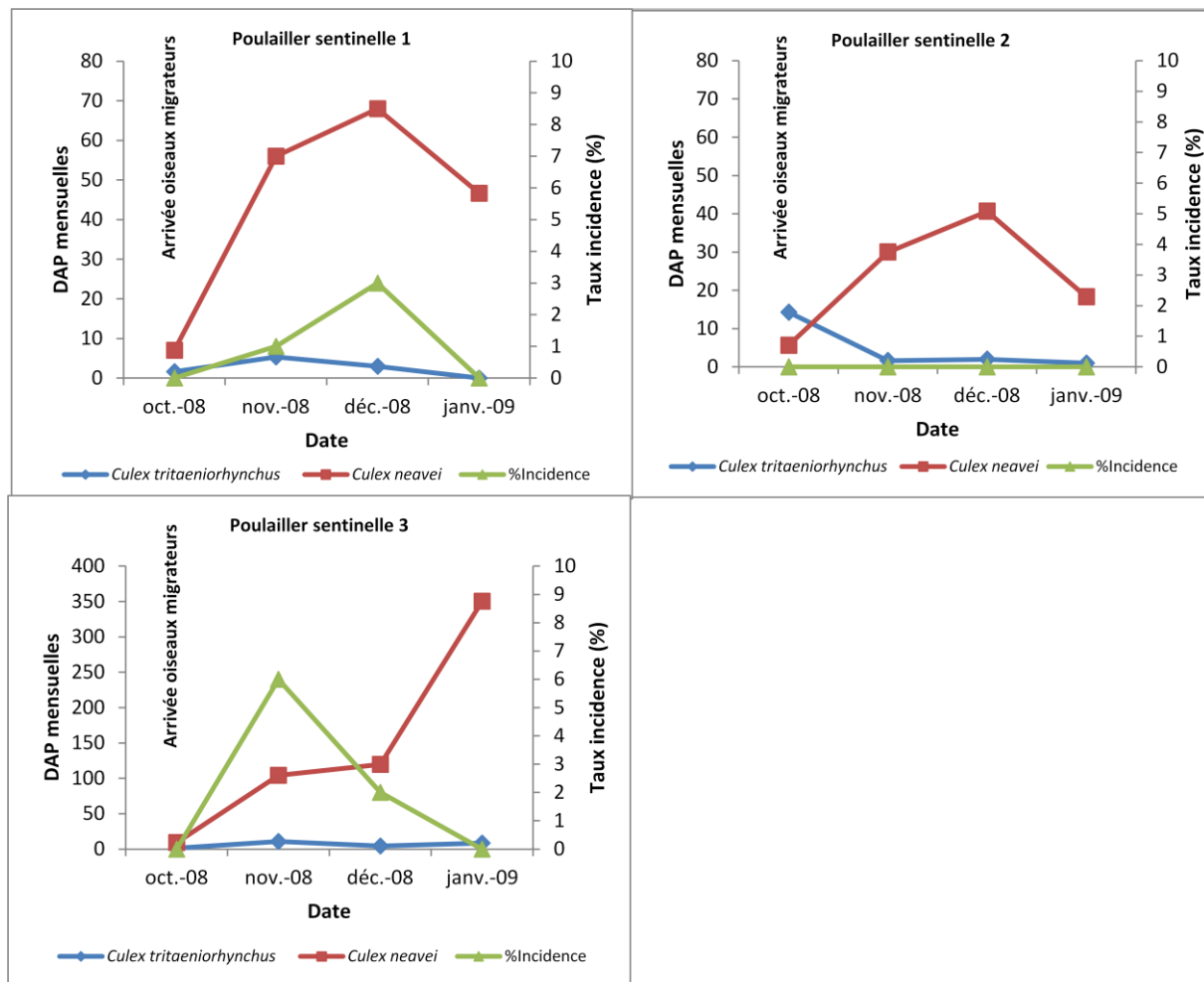


Figure 7: Relation entre l'arrivée des oiseaux migrateurs, les DAP des vecteurs potentiels et l'incidence sérologique de la West Nile d'octobre 2008 à janvier 2009 dans les poulaillers sentinelles de Ross Béthio.

4. DISCUSSION

La West Nile est une maladie endémique au Sénégal. Plusieurs auteurs l'ont montré à travers des études aussi bien sur les vecteurs avec l'isolement fréquent du virus chez de nombreuses espèces de moustiques (Gordon *et al.*, 1992; Traore-Lamizana *et al.*, 1994; Diallo *et al.*, 2005), les oiseaux domestiques (Chevalier *et al.*, 2008b), les oiseaux sauvages (Chevalier *et al.*, 2009) et les chevaux (Cabre *et al.*, 2006b; Chevalier *et al.*, 2006; Chevalier *et al.*, 2010). Dans la perspective de cette étude, un screening fait sur un effectif de 570 chevaux de la zone d'étude a confirmé les forts taux de prévalences documentés dans les études précédentes. En effet, 93% des chevaux prélevés ont été positifs aux IgG anti WNV à l'ELISA avec des taux de prévalence âge-dépendant, les plus vieux animaux ayant les prévalences les plus élevées (N.D. Diouf, com pers). La même observation sur la prévalence âge-dépendante a été faite par Chevalier *et al.* (2006) dans le Ferlo.

L'utilisation de poulets sentinelles pour la surveillance de la West Nile a été préconisée par plusieurs auteurs (Komar, 2001; Langevin *et al.*, 2001; Barrera *et al.*, 2008; Chevalier *et al.*, 2008b; Kwan *et al.*, 2010; Chaskopoulou *et al.*, 2011; Komar *et al.*, 2012) même si dans certains cas, l'infection chez l'homme précède celle des poulets sentinelles (Unlu *et al.*, 2009). Dans d'autres cas, seule une circulation dans la faune aviaire est enregistrée sans apparition de cas humains (Gingrich *et al.*, 2010). Notre étude a mis en évidence la circulation du virus West Nile chez les oiseaux dans la région du Delta du fleuve Sénégal comme ce fût le cas quelques années auparavant dans le Ferlo du Sénégal (Chevalier *et al.*, 2008b). De plus, nos résultats ont délimités une période (10 novembre au 10 décembre 2008) au cours de laquelle toutes les séroconversions des poulets au virus West Nile ont eu lieu. Cette période de transmission est caractérisée par la prolifération des vecteurs avec des conditions climatiques (température, hygrométrie) optimales pour leur développement, leur activité et leur survie et probablement donc une structure d'âge des populations favorable à la capacité vectorielle et le séjour des oiseaux migrateurs dans la région qui abrite aussi le Parc National Ornithologique de Djoudj. En effet, la majorité des espèces d'oiseaux migrateurs en provenance d'Europe arrive dans la région au mois d'octobre et commence leur voyage retour en mars/avril (Morel, 1968). En supposant que la plupart des oiseaux migrateurs se contaminent à partir des sites humides d'hivernation d'Afrique et ramènent le virus West Nile en Europe comme cela est supposé par Durand *et al.* (2010), cela voudrait dire que (i) ces migrateurs restent virémiques plusieurs mois après les périodes de forte circulation virale (fin saison des pluies) s'ils s'infectent au moment de leur arrivée, ce qui est peu probable et/ou (ii) une circulation résiduelle du virus West Nile existe en saison sèche au sein des populations d'oiseaux sauvages (plus probable) que nous n'avons pas pu détecter à cause de la levée précoce de notre dispositif de suivi à la fin du mois janvier 2009. Dans ce dernier cas de figure, *Culex poicilipes* pourrait être le principal vecteur qui intervient dans cette transmission puisque que les populations de *Culex neavei* ont tendance à disparaître à partir du mois de février selon une étude de leur dynamique mensuelle de populations que nous avons réalisé de septembre 2005 à avril 2007. Cependant, les pics d'incidences sérologiques observés sur poulets sentinelles ont coïncidés avec les pics de densités apparentes de *Cx. neavei*, principal vecteur incriminé dans la transmission du virus dans la région (Fall *et al.*, 2011), renforçant ainsi les suspicions à son égard.

Les pics d'incidences sérologiques trouvés par Chevalier *et al.* (2008b) dans le Ferlo ont lieu aux mois d'octobre et de novembre soit le juste après le mois de forte migration (mois de septembre) d'oiseaux dans la région (Morel & Morel, 1978). Une situation similaire a été

observée dans la région du Delta du fleuve Sénégal. Tout comme dans le Delta, c'est à la fin de la saison des pluies que de fortes densités de culex, principaux vecteurs du virus West Nile, sont rencontrées dans le Ferlo (Mondet *et al.*, 2005a).

Bien que les résultats du test sur l'effet du site ne soient pas significativement différents, un gradient décroissant (8% à 100m, 4% à 800m et 0% à 1300m) de l'incidence sérologique a été observé avec la distance du site par rapport au Grand Lampsar. Les résultats mettent en évidence d'une part l'importance de l'emplacement des poulets sentinelles à proximité des sources d'eau pour une surveillance efficace de la West Nile dans la mesure où les taux d'incidence les plus élevés sont détectés non loin du fleuve, principal gîte de reproduction et de repos des moustiques et lieu de repos également des oiseaux migrateurs. D'autre part, ils déterminent une période (fin de saison des pluies) et une zone à risque de transmission du virus WN autour des points d'eau. Dans le cas présent, nous pouvons l'estimer à un rayon de 1,300m. Mais ce résultat peut s'expliquer aussi par la distance de vol actif parcourue par les moustiques vecteurs c'est-à-dire leur capacité de dispersion. En effet des études de marquage-lacher-recapture réalisées dans le Ferlo sur *Aedes vexans* et *Culex poicilipes*, deux vecteurs potentiels du virus West Nile, ont montré qu'ils se déplaçaient très peu i.e moins de 650m du lieu de lacher (Ba *et al.*, 2005). Les résultats de nos captures ont montrés des densités apparentes de *Culex neavei* trois et six fois supérieures dans le poulailler le proche du *Grand Lampsar* que dans les autres situés respectivement à 800m et 1300m.

Ainsi, le rôle des poulets locaux (*Gallus gallus domesticus*) dans le maintien du virus WN, du moins ceux qui sont assez proches des gîtes de reproduction des moustiques, ne doit pas être négligé même si leur virémie est de courte durée (en moyenne 2 jours) (Nemeth & Bowen, 2007). Il ne faut pas non plus négliger le rôle que des animaux sauvages, porteurs chroniques du virus West Nile, inféodés à l'habitat des rivières pourraient également participer au maintien du virus. L'infection expérimentale de la grenouille des lacs (*Ranaridibunda*) avec une souche russe du virus West Nile a entraîné des niveaux élevés de virémie pouvant même infecter un moustique (Kostiukov *et al.*, 1985) poussant les auteurs à le considérer comme un réservoir de ce virus.

Dans ces régions où la plupart des cas humains de West Nile passent probablement pour des cas de paludisme, par méconnaissance de la maladie par les agents de la santé publique, la détection des séroconversions chez les poulets sentinelles pourrait être un bon indicateur de risque chez les hommes. En effet, la circulation du virus dans la population aviaire et/ou les mortalités d'oiseaux anticipent souvent la circulation du virus chez l'homme (Steele *et al.*, 2000; Unlu *et al.*, 2009; Veksler *et al.*, 2009; Kwan *et al.*, 2010). Ce qui devrait être aussi le

cas au Sénégal avec l'amplification au sein des populations d'oiseaux, observée sur poulets sentinelles, en octobre suivi d'une transmission aux espèces cibles (chevaux, hommes) plus tardive (novembre-décembre) avec notamment le rôle relais saisonnier joué par *Cx. neavei* de part ses préférences trophiques opportunistes (Fall *et al.*, 2011).

De plus, près de 90% de la population équine est séropositive dans la zone (Chevalier *et al.*, 2010) et ne manifeste pas de signes cliniques apparents, faisant de cette dernière un mauvais témoin clinique de l'infection. Comme en santé humaine, la maladie n'est pas bien connue des agents des services vétérinaires. Il est donc nécessaire de sensibiliser les acteurs de santé humaine et vétérinaire sur l'existence de cette maladie et de les former sur la conduite à tenir en cas de suspicion. Des investigations simultanées regroupant les agents de la santé publique, de la santé animale, des ornithologistes et des entomologistes doivent être mener pour une meilleure compréhension de la circulation de la maladie dans les populations cibles.

5. Références bibliographiques

- BA, Y., DIALLO, D., KEBE, C. M., DIA, I. & DIALLO, M. (2005). Aspects of bioecology of two Rift Valley Fever Virus vectors in Senegal (West Africa): *Aedes vexans* and *Culex poicilipes* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **42**, 739-750.
- BALENGHIEN, T., FOUQUE, F., SABATIER, P. & BICOUT, D. J. (2006). Horse-, bird-, and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *Journal of Medical Entomology* **43**, 936-946.
- BARRERA, R., HUNSPERGER, E., MUÑOZ-JORDÁN, J. L., AMADOR, M., DIAZ, A., SMITH, J., K., B., BELTRAN, M., VERGNE, E., VERDUIN, M., LAMBERT, A. & SUN, W. (2008). First isolation of West Nile virus in the Caribbean. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **78**, 666-668.
- BLITVICH, B. J., BOWEN, R. A., MARLENEE, N. L., HALL, R. A., BUNNING, M. L. & BEATY, B. J. (2003a). Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for detection of West Nile virus antibodies in domestic mammals. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 2676-2679.
- BLITVICH, B. J., MARLENEE, N. L., HALL, R. A., CALISHER, C. H., BOWEN, R. A., ROEHRIG, J. T., KOMAR, N., LANGEVIN, S. A. & BEATY, B. J. (2003b). Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies to West Nile virus in multiple avian species. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 1041-1047.
- CABRE, O., GRANDADAM, M., MARIÉ, J. L., GRAVIER, P., PRANGÉ, A., SANTINELLI, Y., ROUS, V., BOURRY, O., DURAND, J. P., TOLOU, H. & DAVOUST, B. (2006). West Nile Virus in horses, sub-Saharan Africa. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 1958-1960.
- CHASKOPOULOU, A., DOVAS, C. I., CHAINTOUTIS, S. C., BOUZALAS, I., ARA, G. & PAPANASTASSOPOULOU, M. (2011). Evidence of enzootic circulation of West Nile virus (Nea Santa-Greece-2010, lineage 2), Greece, May to July 2011. *Eurosurveillance* **16**, 19933.
- CHEVALIER, V., DUPRESSOIR, A., TRAN, A., DIOP, O. M., GOTTLAND, C., DIALLO, M., ETTER, E., NDIAYE, M., GROBOIS, V., DIA, M., GAIDET, N., SALL, A. A., SOTI, V. & NIANG, M. (2010). Environmental risk factors of West Nile virus infection of horses in the Senegal River basin. *Epidemiology and Infection* **23**, 1-9.
- CHEVALIER, V., LANCELOT, R., DIAÏTE, A., MONDET, B. & LAMBALLERIE, X. (2008). Use of sentinel chickens to study the transmission dynamics of West Nile virus in a Sahelian ecosystem. *Epidemiology and Infection* **136**, 525-528.
- CHEVALIER, V., LANCELOT, R., DIAÏTÉ, A., MONDET, B., SALL, B. & DE LAMBALLERIE, X. (2006). Serological assessment of West Nile fever virus activity in the pastoral system of Ferlo, Senegal. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1081**, 216-225.
- CHEVALIER, V., REYNAUD, P., LEFRANÇOIS, T., DURAND, B., BAILLON, F., BALANÇA, G., GAIDET, N., MONDET, B. & LANCELOT, R. (2009). Predicting West Nile Virus

- Seroprevalence in Wild Birds in Senegal. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **9**, 589-596.
- DIALLO, M., NABETH, P., BA, K., SALL, A. A., BA, Y., MONDO, M., GIRAULT, L., ABDALAH, M. O. & MATHIOT, C. (2005). Mosquito vectors of the 1998-1999 outbreak of Rift Valley Fever and other arboviruses (Bagaza, Sanar, Wesselsbron and West Nile) in Mauritania and Senegal. *Medical and Veterinary Entomology* **19**, 119-126.
- DURAND, B., BALANÇA, G., BALDET, T. & CHEVALIER, V. (2010). A metapopulation model to simulate West Nile virus circulation in Western Africa, Southern Europe and the Mediterranean basin. *Veterinary Research* **41**, 32.
- FALL, A. G., DIAÏTÉ, A., LANCELOT, R., TRAN, A., SOTI, V., ETTER, E., KONATÉ, L., FAYE, O. & BOUYER, J. (2011). Feeding behaviour of potential vectors of West Nile virus in Senegal. *Parasites and Vectors* **4**, 99.
- GINGRICH, J. B., O'CONNOR, L. L., MEREDITH, W. H., PESEK, J. D. & SHRIVER, W. G. (2010). Epidemiology of West Nile virus: a silent epizootic in Northern Delaware in 2007 without associated human cases. *Journal of the American Mosquito Control Association* **26**, 274-286.
- GORDON, S. W., TAMMARIELLO, R. F., LINTHICUM, K. J., DOHM, D. J., DIGOUTTE, J. P. & CALVO-WILSON, M. A. (1992). Arbovirus isolations from mosquitoes collected during 1988 in the Senegal River basin. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **47**, 742-748.
- HOLLANDER, M. & WOLFE, D. A. (1973). *Non parametric statistical inference*. John Wiley & Sons, New York.
- HUBALEK, Z. & HALOUZKA, J. (1999). West Nile virus - a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **5**, 643-650.
- KOMAR, N. (2001). West Nile virus surveillance using sentinel birds. *Annals of the New York Academy of Sciences* **951**, 58-73.
- KOMAR, N., BESSOFF, K., DIAZ, A., AMADOR, M., YOUNG, G., SEDA, R., PEREZ, T. & HUNSPERGER, E. (2012). Avian hosts of West Nile virus in Puerto Rico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **12**, 47-54.
- KOSTIUKOV, M. A., GORDEEVA, Z. E., BULYCHEV, V. P., NEMOVA, N. V. & DANIAROV, O. A. (1985). [The lake frog (*Rana ridibunda*)--one of the food hosts of blood-sucking mosquitoes in Tadzhikistan--a reservoir of the West Nile fever virus]. *Meditinskaiia parazitologiya i parazitarnye bolezni*, 49-50.
- KWAN, J. L., KLUH, S., MADON, M. B., NGUYEN, D. V., BARKER, C. M. & REISEN, W. K. (2010). Sentinel Chicken Seroconversions Track Tangential Transmission of West Nile Virus to Humans in the Greater Los Angeles Area of California. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **83**, 1137-1145.

- LANGEVIN, S. A., BUNNING, M., DAVIS, B. & KOMAR, N. (2001). Experimental infection of chickens as candidate sentinels for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 726-729.
- LEFRANCOIS, T., BLITVICH, B., PRADEL, J., MOLIA, S., VACHIER, N. & MARTINEZ, D. (2006). West Nile virus in Guadeloupe : introduction, spread, and decrease in circulation level : 2002-2005. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1081**, 206-215.
- LEFRANCOIS, T., BLITVICH, B., PRADEL, J., MOLIA, S., VACHIER, N., PALLAVICINI, P., MARLENEE, N., ZIENTARA, S., PETITCLERC, M. & MARTINEZ, D. (2005). West Nile virus surveillance, Guadeloupe, 2003-2004. *Emerging Infectious Diseases* **11**, 1100-1103.
- LESNOFF, M., LANCELOT, R. & MOULIN, C. H. (2007). Calcul des taux démographiques dans les cheptels de ruminants domestiques tropicaux : approche en temps discret. CIRAD, ILRI.
- LESNOFF, M., LANCELOT, R., MOULIN, C.-H., MESSAD, S., JUANES, X. & SAHUT, C. (2010). Calculation of demographic parameters in tropical livestock herds. A discrete time approach with LASER animal-based monitoring data. CIRAD.
- MONDET, B., DIAITE, A., FALL, A. G. & CHEVALIER, V. (2005). Relations entre la pluviométrie et le risque de transmission virale par les moustiques : Cas du virus de la Rift Valley Fever (RVF) dans le Ferlo (Sénégal). *Environnement risque et Santé* **4**, 125-129.
- MOREL, G. (1968). *Contribution à la synécologie des oiseaux du Sahel sénégalais*. ORSTOM, Paris.
- MOREL, G. J. & MOREL, M.-Y. (1978). Recherches écologiques sur une savane sahélienne du Ferlo septentrional, Sénégal. Etude d'une communauté avienne. *Cahiers ORSTOM, série Biologie* **13**, 3-34.
- MOREL, G. J. & ROUX, F. (1966). Les migrateurs paléarctiques au Sénégal. II. Passereaux et synthèse générale. *La Terre et la Vie* **2**, 143-176.
- MUNZEL, U. & HOTHORN, L. A. (2001). A Unified Approach to Simultaneous Rank Test Procedures in the Unbalanced One-way Layout. *Biometrical Journal* **43**, 553-569.
- NEMETH, N. M. & BOWEN, R. A. (2007). Dynamics of passive immunity to West Nile virus in domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **76**, 310-317.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. (2010). R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- RAPPOLE, J., DERRICKSON, S. & HUBALEK, Z. (2000). Migratory birds and spread of West Nile virus in the western hemisphere. *Emerging Infectious Diseases* **6**, 319-328.

- STEELE, K. E., LINN, M. J., SCHOEPP, R. J., KOMAR, N., GEISBERT, T. W., MANDUCA, R. M., CALLE, P. P., RAPHAEL, B. L., CLIPPINGER, T. L., LARSEN, T., SMITH, J., LANCIOTTI, R. S., PANELLA, N. A. & MCNAMARA, T. S. (2000). Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Veterinary Pathology* **37**, 208-224.
- TRAORE-LAMIZANA, M., FONTENILLE, D., DIALLO, M., BA, Y., ZELLER, H. G., MONDO, M., ADAM, F., THONNON, J. & MAIGA, A. (2001). Arbovirus surveillance from 1990 to 1995 in the Barkedji area (Ferlo) of Senegal, a possible natural focus of Rift Valley fever virus. *Journal of Medical Entomology* **38**, 480-492.
- TRAORE-LAMIZANA, M., ZELLER, H. G., MONDO, M., HERVY, J. P., ADAM, F. & DIGOUTTE, J. P. (1994). Isolation of West Nile and Bagaza viruses from mosquito (Diptera Culicidae) in central Senegal (Ferlo). *Journal of Medical Entomology* **31**, 934-938.
- UNLU, I., ROY, A. F., YATES, M., GARRETT, D., BELL, H., HARDEN, T. & FOIL, L. D. (2009). Evaluation of surveillance methods for detection of West Nile virus activity in East Baton Rouge Parish, Louisiana, 2004-2006. *Journal of the American Mosquito Control Association* **25**, 126-133.
- VEKSLER, A., EIDSON, M. & ZURBENKO, I. (2009). Assessment of methods for prediction of human West Nile virus (WNV) disease from WNV-infected dead birds. *Emerging Themes in Epidemiology* **6**.

L'article qui suit étudie le comportement alimentaire saisonnier des vecteurs potentiels de la West Nile dans le Delta du fleuve Sénégal. En utilisant comme appât des acteurs intervenant dans le cycle épidémiologique de la maladie (cheval, oiseaux), nous avons évalué le rôle que pourraient jouer certains moustiques vecteurs dans la transmission, en relation avec des paramètres environnementaux comme la température et l'humidité relative. Les résultats de ces études font d'une publication dans *Parasites and Vectors* (Fall *et al.*, 2011) intégrée dans ce document.

RESEARCH

Open Access

Feeding behaviour of potential vectors of West Nile virus in Senegal

Assane G Fall^{1*}, Amadou Diaïté¹, Renaud Lancelot², Annelise Tran^{3,4}, Valérie Soti^{3,4}, Eric Etter^{4,6}, Lassana Konaté⁵, Ousmane Faye⁵ and Jérémy Bouyer^{1,2}

Abstract

Background: West Nile virus (WNV) is a widespread pathogen maintained in an enzootic cycle between mosquitoes and birds with occasional spill-over into dead-end hosts such as horses and humans. Migratory birds are believed to play an important role in its dissemination from and to the Palaearctic area, as well as its local dispersion between wintering sites. The Djoudj Park, located in Senegal, is a major wintering site for birds migrating from Europe during the study period (Sept. 2008- Jan. 2009). In this work, we studied the seasonal feeding behaviour dynamics of the potential WNV mosquito vectors at the border of the Djoudj Park, using a reference trapping method (CDC light CO₂-baited traps) and two host-specific methods (horse- and pigeon-baited traps). Blood meals of engorged females were analysed to determine their origin.

Results: Results indicated that *Culex tritaeniorhynchus* and *Cx. neavei* may play a key role in the WNV transmission dynamics, the latter being the best candidate bridging-vector species between mammals and birds. Moreover, the attractiveness of pigeon- and horse-baited traps for *Cx. neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus* varied with time. Finally, *Cx. tritaeniorhynchus* was only active when the night temperature was above 20°C, whereas *Cx. neavei* was active throughout the observation period.

Conclusions: *Cx. neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus* are the main candidate vectors for the transmission of WNV in the area. The changes in host attractiveness might be related to variable densities of the migratory birds during the trapping period. We discuss the importance of these results on the risk of WNV transmission in horses and humans.

Background

West Nile fever (WNF) is an arthropod-borne disease caused by a *Flavivirus* (Flaviviridae) belonging to the Japanese encephalitis antigenic complex [1]. Birds are involved in its pathosystem. Horses and humans are dead-end hosts: their infection often remains unapparent but they can suffer febrile or even fatal illness with neural symptoms [2]. The West Nile virus (WNV) is highly endemic in Africa in general, and particularly in Senegal [3-5]. Migratory birds may be involved in spreading the virus in Africa, Europe, the Middle East and south-western Asia, especially through the Palaearctic migration routes where major flyways are crossing each other [6]. Such transcontinental introduction must

be anchored to local (African) spreading mechanism especially at birds' nesting, feeding, or resting sites where vector feeding behaviour probably plays a critical role [7].

The Senegal River delta (northern Senegal and southern Mauritania) is characterized by a mixture of natural wetlands and extensive irrigated agricultural activity. It is one of the major wintering sites for birds migrating between Europe and Africa that benefit from abundant food resources in the Djoudj National Park, where this study was conducted. The majority of the bird species migrating from Europe arrive there during the month of October and start their return flight during March/April [8].

A number of mosquito candidate vectors for the transmission of WNV have been identified in Senegal: *Culex poicilipes*, *Cx. neavei*, *Mymomia* spp., *Mymomia hispida*, *M. lacustris*, *M. splendens*, *Aedomyia africana* [5], *A. vexans* and *Mansonia uniformis* [9]. All these

* Correspondence: agueyefall@yahoo.fr

¹Institut Sénégalais de Recherches Agricoles/Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires BP 2057 Dakar-Hann, Sénégal
Full list of author information is available at the end of the article

species have a nocturnal feeding behaviour. However, little is known regarding their host preferences, especially regarding species feeding both on birds and mammals. The main objective of this study was to assess their feeding behaviour and its seasonality during the period of high risk of transmission of WNV in the area [3], to identify potential factors increasing the transmission between birds, and more importantly, from birds to mammals.

The study was conducted in Ross Bethio, a small town located 10 km south from the Djoudj National Park, Senegal (Figure 1). In 2005, a serological survey carried out on horses in this region highlighted high WN prevalence rates (0.85; $n = 367$; 95% CI 0.81-0.89) [10].

The landscape surrounding Ross-Bethio is characterized by grasslands, shrublands and dry saline flats ("tans"). This area is also one of the main agricultural centres in the Senegal River delta, rice and sugar cane representing the main crops. During the dry season (from November to May), green vegetation is limited to some scattered trees and shrubs. During the rainy season (June to October: mean annual rainfall ca. 250 mm), an herbaceous layer is available for domestic ruminants, donkeys and horses. The latter is used for ploughing, transporting goods and humans, and social distinction. The Senegal River valley, including the delta, is flooded each year either by rainfall water naturally collected in the upper Senegal River basin, or by planned water releases from the Manantali dam (upper Senegal River,

Mali) while retaining water with the Diama dam located near Ross Bethio. In Ross Bethio, the maximum flooding level is usually observed in early November.

Results

In total, 28,965 female mosquitoes, representing 12 species in 5 genera, were captured in all traps over 79 nights from September 2008 to January 2009. Mosquitoes from the *Culex* genus represented 95% (27,443) of the total captures. The predominant species were *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. neavei* and *Cx. poicilipes*, representing 69.4% (20,109), 19.7% (5,702) and 5.4% (1,575) of the total captures respectively. CDC light CO₂-baited traps were the most efficient with 20,382 female mosquitoes (apparent nightly density per trap - ANT of the total collection = 566.2) in 11 species belonging to 5 genera closely followed by the horse-baited trap with 7402 female mosquitoes (ANT of the total collection = 493.5) in 8 species and 4 genera. Pigeon-baited traps collected 1,181 (ANT of the total collection = 42.2) mosquitoes in 6 species and 2 genera (Table 1).

The predominance of *Cx. tritaeniorhynchus* and *Cx. neavei* over the other species was also clearly showed on the table 1. The ANTs within a given trap type were correlated between sites ($p < 0.05$). Whereas *Cx. tritaeniorhynchus* was mainly mammophilic, *Cx. neavei* was attracted by both horses and birds.

A strong seasonality was observed in the attractiveness of each host for *Cx. neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus*. The

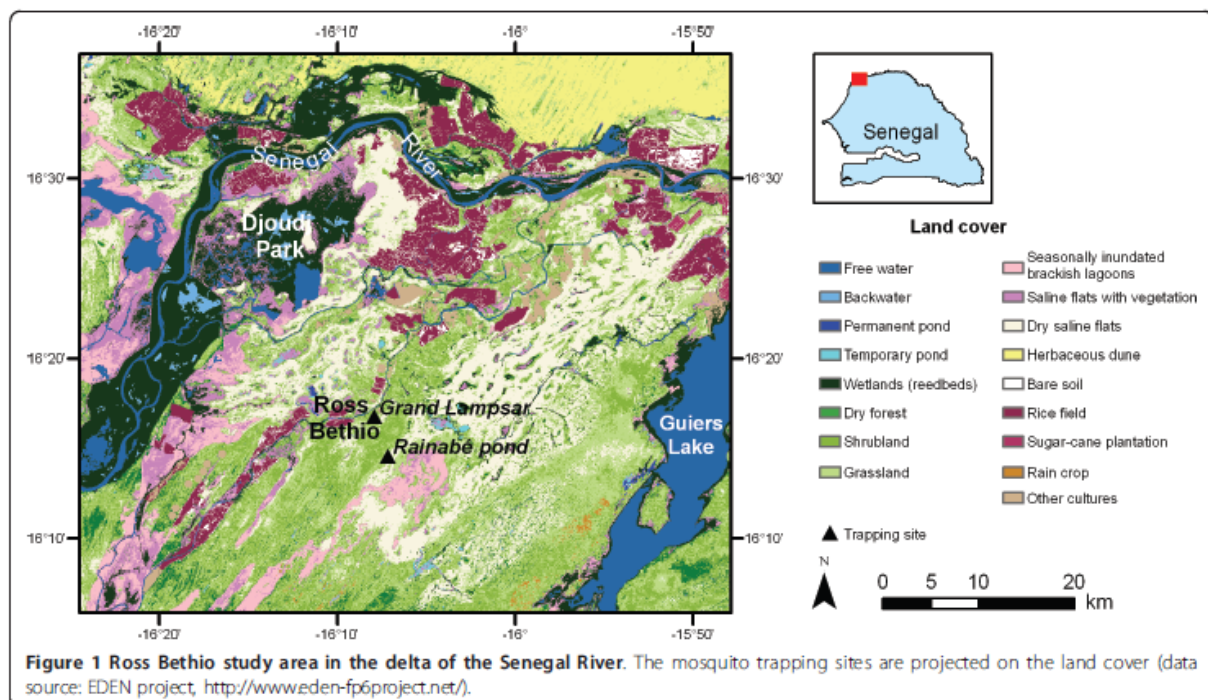


Table 1 Mean apparent mosquito densities in the Senegal River delta

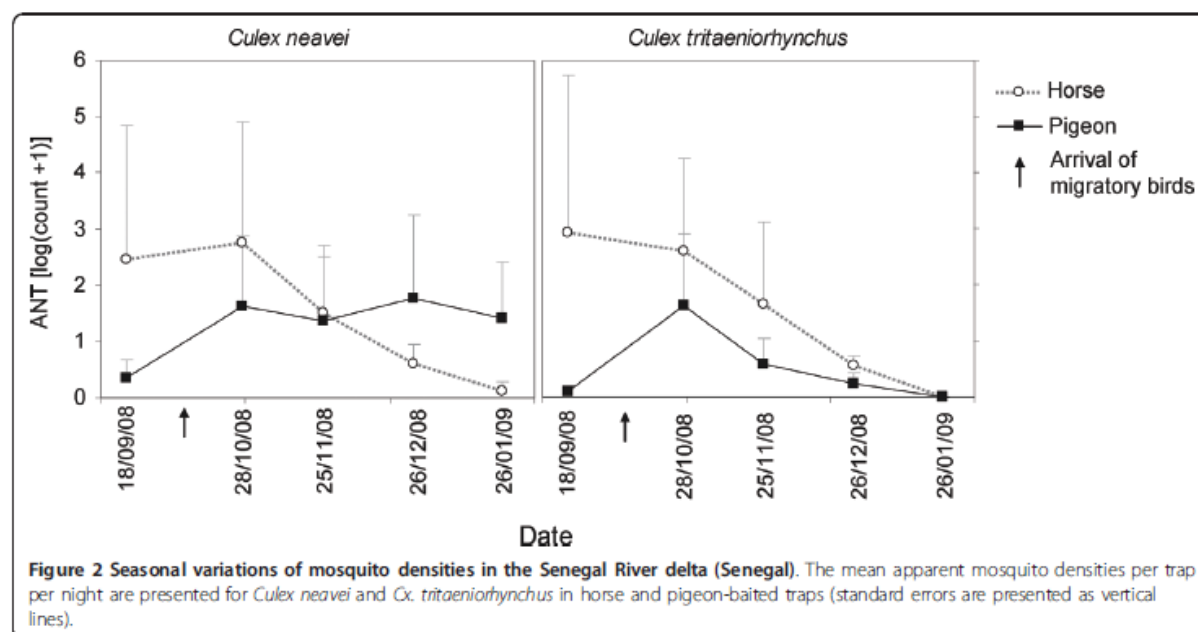
Mosquito species	CDC light CO ₂ -baited traps			Horse-baited trap	Pigeon-baited traps	
	GL ground (n = 15)	GL canopy (n = 12)	RM ground (n = 9)	RB (n = 15)	GL ground (n = 14)	GL canopy (n = 14)
<i>Culex neavei</i>	53.7 ± 53.41	106.3 ± 121.51	10.4 ± 21.54	176.7 ± 275.47	3.3 ± 4.16	59.4 ± 38.82
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	540.3 ± 755.92	408.1 ± 674.02	331.5 ± 540.06	257.4 ± 485.02	1.6 ± 3.71	17.4 ± 33.36
<i>Aedes sudanensis</i>	0	0.1 ± 0.29	0.7 ± 1.12	0	0	0
<i>Mansonia uniformis</i>	21.2 ± 21.92	18.3 ± 24.50	5 ± 5.96	2.2 ± 3.23	0.4 ± 0.74	0.5 ± 0.85
<i>Aedomyia africana</i>	0.1 ± 0.35	2.1 ± 2.75	0	0.1 ± 0.26	0	0
<i>Anopheles rufipes</i>	0	0.1 ± 0.29	0.1 ± 0.33	0.1 ± 0.26	0	0
<i>Anopheles pharoensis</i>	6.3 ± 7.82	3.2 ± 3.54	4.8 ± 8.67	29.8 ± 44.25	0	0
<i>Anopheles ziemanni</i>	4.3 ± 7.50	3.9 ± 6.72	1.8 ± 2.49	7.1 ± 8.67	0	0
<i>Culex bitaeniorhynchus</i>	0.9 ± 1.39	0.2 ± 0.39	2 ± 4.69	0	0	0.2 ± 0.43
<i>Culex theileri</i>	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.27
<i>Culex poicilipes</i>	16.3 ± 15.96	68 ± 89.94	21.2 ± 49.73	20.1 ± 26.33	0	1.6 ± 2.82
<i>Culex perfuscus</i>	0.7 ± 1.39	0.3 ± 0.89	0.1 ± 0.33	0	0	0

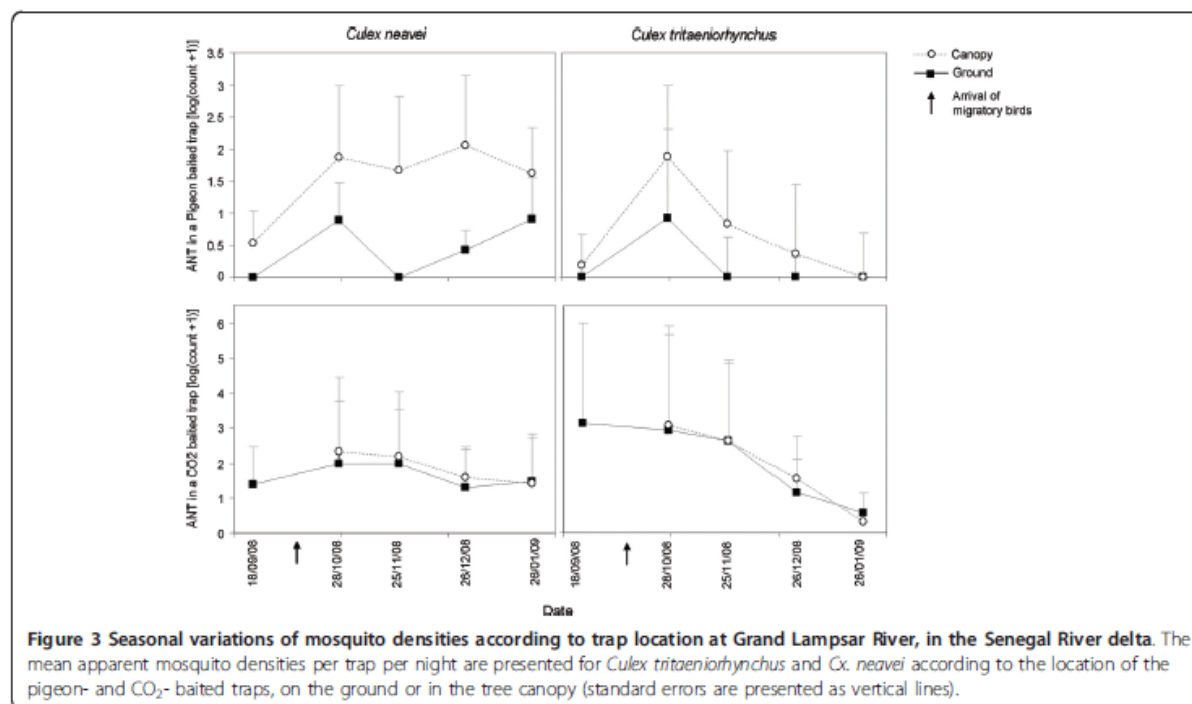
Mean values per trap per night ± standard deviation for each mosquito species during the whole trapping period are presented according to the trap type, height and location (RB = Ross Bethio, GL = Grand Lampsar, RM = Rainabé temporary pound, n = number of trap-nights).

ANTs of *Cx. neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus* were highest in September and October in the horse-baited trap and then decreased until January. In pigeon-baited traps, they increased in October for both species and remained stable for *Cx. neavei* whereas they decreased again until January for *Cx. tritaeniorhynchus* (Figure 2). In October, both mosquito species fed on horses and birds.

The height of the trap had an impact on host attractiveness. In the CDC light CO₂-baited traps, the ANTs of the two predominant species (*Cx. tritaeniorhynchus* and *Cx. neavei*) did not differ significantly when placed at the ground or in the tree canopy in Grand Lampsar

($p > 0.05$). On the other hand, these ANTs differed significantly between heights in pigeon-baited traps for *Cx. tritaeniorhynchus* ($p = 0.02$), and *Cx. neavei* ($p = 4 \times 10^{-5}$). These differences were significant only after October (Figure 3). Whereas the ANTs in the CO₂-baited CDC traps decreased during the study both in the tree canopy and on the ground (as with the horse-baited traps), they increased sharply in October for both species in the pigeon-baited traps, particularly in the tree canopy, and remained stable for *Cx. neavei* until the end of the study period, whereas they decreased again in *Cx. tritaeniorhynchus*.





Most of the engorged mosquitoes were collected from the CO₂-baited traps placed on the ground (38 out of 45). Blood meals analyses (Table 2) revealed that *Cx. neavei* fed mainly on birds, followed by humans, cattle and horses. *Culex tritaeniorhynchus* blood meals were taken on horses, humans, cattle, and birds. Mixed meals identified from *Cx. tritaeniorhynchus* (14% of total blood meals) were associations between sheep and cattle (50%), human and cattle (25%) and human and horse (25%).

There was no relationship either between the temperature or the relative hygrometry and the ANTs of *Cx. neavei* ($p = 0.82$). Conversely, the ANTs of *Cx. tritaeniorhynchus* were correlated with temperature ($p = 0.001$) and relative hygrometry ($p = 7 \times 10^{-9}$). Indeed, the activity of *Cx. tritaeniorhynchus* was very low when temperature was below 20°C and/or the relative hygrometry was below 55% (Figure 4).

Discussion

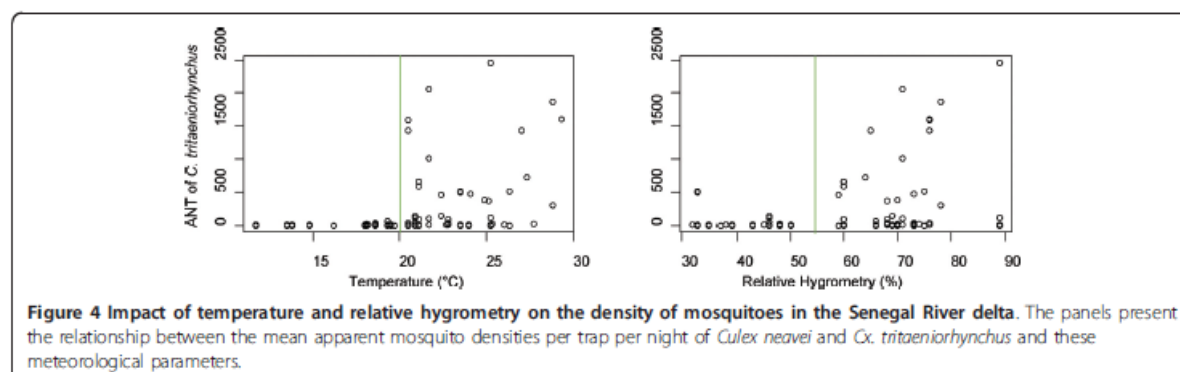
Greater mosquito numbers and higher species diversity were caught in CO₂-baited CDC light traps, as compared with the other traps. CO₂-baited CDC light traps allow a representative census of the mosquito diversity in a given area, particularly arbovirus vectors in Senegal [5,11,12]. All captured mosquito species, but *Cx. theileri*, were recorded in these traps in Ross Béthio. Indeed, the latter seems to be very rare in the area. Only 45 females (0.2%) were found engorged. Such a low proportion has been observed in other studies [13]: indeed, starving mosquitoes are more attracted by CO₂-baited traps (which mimic hosts' breath) than engorged mosquitoes.

Culex poicilipes, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. neavei*, and *Mansonia uniformis* were the most abundant mosquito species given the traps used. In Senegal, WNV has been isolated, or WN viral ribonucleic acid has been detected, from each of these species [5,12,14]. The competence of

Table 2 Origin of mosquito bloodmeals in the Senegal River delta

Mosquito species	Total number of samples	Vertebrate hosts (%)							Not identified blood meals (%)
		Horse	Cattle	Birds	Human	Cattle, Sheep	Human, Cattle	Human, Horse	
<i>Cx. neavei</i>	14	1(7.1)	2 (14.3)	4 (28.6)	3(21.4)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	4(28.6)
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	28	10 (35.7)	4 (14.3)	1(3.6)	5(17.8)	2(7.1)	1(3.6)	1(3.6)	4(14.3)

The results are presented for *Culex neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus* captured in CO₂-baited CDC traps (percentage in brackets).



Cx. tritaeniorhynchus and *Cx. neavei* for the WNV has been demonstrated [15,16]. These two species are thus possible WNV vectors in this area. Regarding other mosquito species, virus isolations do not imply that these species are competent WNV vectors. It is only an indication that they had fed on viremic hosts.

Chevalier *et al.* [7] found higher prevalence rate ($p = 3 \times 10^{-4}$) for WNV in resident birds resting on the ground (0.10, $n = 88$) than in those resting in the bush (0.04, $n = 125$) or in the canopy (0.04, $n=209$). In this study, pigeon baited-traps captured a lower diversity of mosquito species (5 *Culex* species and 1 *Mansonia*). The height of the pigeon baited-trap had an effect on its attractiveness for *Cx. tritaeniorhynchus* and *Cx. neavei*, conversely to the CO₂-baited trap. However, this difference depended on the bait and the season, and was only noticeable from October, when the migratory birds are known to arrive from Palaearctic areas for wintering [17]. We also observed a shift of feeding hosts of *Cx. neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus* starting in October, from horses to birds. However, the dataset is limited and the observed shift difficult to explain. Our main hypothesis is that they were caused by changes in host availability combined with host and site fidelity in these two mosquito species: the night resting sites of passerine birds is the tree canopy, and their increase in abundance might increase the attractiveness of pigeon-baited traps set in the tree canopy. Actually, host fidelity has been reported in other vector species [18,19] while site fidelity has been reported in anophelines [20]. Host fidelity was also reported in experimental conditions for *Cx. tritaeniorhynchus* [21]. Mark-release-recapture experiments also suggested that two other *Culex* species might "memorize" flight paths within their environment [22]. In tsetse flies, the decomposition of habitats into a "home range" and a "feeding ground" - between which insects would fly on purpose [23], was recently assessed using population genetics [24]. On the contrary, in opportunistic mosquitoes such as *Aedes vexans arabienensis*, the feeding behaviour is linked to host availability

[25]. Unfortunately, we could not validate these shifts in feeding patterns using the ELISA results because of limited sample size (only 45 blood-fed mosquitoes). This study should thus be repeated, including a follow up of the resting sites and abundance of birds from different orders (Passeriformes, Galliformes, Charadriiformes, etc.), and continued during the departure of migratory birds in March to April to confirm that the mosquitoes would go back to the available mammal hosts. In the Ferlo region of Senegal, 175 km south-east from Ross Bethio, *Cx. neavei* was also found more abundant in the tree canopy than on the ground, using both pigeon- and chicken-baited traps [9].

The study period ranged from Sept. 2008 to Jan. 2009, corresponding to the wintering of European bird species in the Djoudj National Park [8,17], as well as to a high density of potential mosquito WNV vectors: end of rainy season, flooding of the Senegal River Valley, optimum temperature and relative hygrometry for the development and the survival of vectors. A prospective serological survey carried out during the same time period on a cohort of seronegative horses, showed that WNV circulation occurred mainly between October and January in Ross Bethio (Diouf, pers. com.). The same WNV transmission period was observed in sentinel chicken in the Ferlo [3], also when surface water and mosquitoes were abundant, and the migratory birds arrived in the area [26].

If the shift of feeding patterns were to be confirmed, it might favour the transmission of the WNV from birds to horses. Actually, between-bird WNV transmission [27] would be increased due to a higher ornithophilic tropism in *Cx. neavei* when birds occur at high densities, but then the risk of WNV transmission to horses and humans would increase again with the departure of birds. Results of blood meal analyses confirmed that humans were the second hosts after horses in *Cx. tritaeniorhynchus*, and after birds in *Cx. neavei*. Such shifts from birds to humans were demonstrated for *Culex pipiens* and *Cx. tarsalis* in North America [28]. They

were governed by the dispersal of their bird preferred hosts and lead to higher risk of WNV infection in human.

Lastly, the activity of *Cx. tritaeniorhynchus* was governed by a threshold in temperature/hygrometry (Figure 4), which was not observed for *Cx. neavei*.

Conclusions

Without neglecting the possible role of other mosquito species in the transmission of the WNV, results obtained in this study suggest that i) *Cx. neavei* and *Cx. tritaeniorhynchus* are the main candidate vectors for the transmission of WNV, ii) *Cx. neavei* is probably a permanent between-bird vector, and a seasonal bridge vector between birds and mammalian hosts, iii) *Cx. tritaeniorhynchus* is probably a seasonal less important bridge vector between birds and mammalian hosts.

Methods

Trapping systems

The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) light trap [29] baited with CO₂ was used as the reference trap. It was compared with animal-baited traps using pigeons and horses. The horse-baited trap was a steel cage (2.5 × 1.5 × 2 m) containing a horse and covered with a mosquito netting (4 × 3.5 × 2.5 m) hanging approximately at 15 cm from the ground, thus allowing the mosquitoes to enter. This model was used by Balenghien et al. [30] to study the potential WNV vectors during an outbreak of this disease in Southern France. The pigeon-baited trap was a plastic cylinder of 31.5 cm diameter and 90 cm length divided into 3 compartments. The central compartment was 50 cm long and contained the pigeon box. The two lateral compartments measured each 20 cm and were closed at their sides akin to the central compartment by a mosquito net. Funnel of mosquito netting with an internal opening of about 3 cm of diameter were fixed to the outside sides and allowed the mosquitoes to enter. Darbro and Harrington [31] used this trap model for surveillance of WN mosquito vectors in the New York state (USA). Mosquitoes captured in these animal-baited traps were collected by aspiration.

Study site

The CDC light CO₂-baited trap was set near the Grand Lampsar River (16.279°N, 16.132°W), a tributary of the Senegal River and near the Rainabe temporary pond (16.242°N, 16.119°W) (Figure 1). The pigeon baited traps were set only near the Grand Lampsar River. CDC light CO₂-baited trap and pigeon baited traps were placed either at about 1.5 m high from the ground, or at about 6 m high in the tree canopy, at the extremities of square of about 10 by 10 m. The horse-baited trap was placed in the stable of a horse owner in Ross Bethio (16.268°N, 16.133°W).

Mosquito traps were set overnight from 6 pm to 6 am during three consecutive days, monthly from 16 Sept. 2008 to 28 Jan. 2009. Mosquitoes were identified using the morphological keys of Edwards [32] for the Culicinae subfamily and Diagne et al. [33] for the Anophelinae subfamily. Engorged females collected in CDC light CO₂-baited traps were placed in tubes individually and stored at -20°C until the determination of the origin of their blood meal. The ELISA technique developed by Beier et al. [34] was used for these analyses. The choice of conjugates was done taking into account the potential hosts frequenting the trapping sites. The following conjugates were thus used: anti-human, anti-sheep, anti-cat, anti-chicken, and anti-horse.

Temperature and relative hygrometry data were also collected with the Thermo-Hygro sensor (model NO. THGR228N HUGER®) placed in each trapping site. During the 2008 rainy season, the last rains were recorded in the second half of September: no rain was thus recorded during our study.

Statistical analyses

Trap attractiveness for each mosquito species was computed as the mean number of mosquito individuals from this species in a given trap during three consecutive night catches, also called the mean apparent nightly density per trap (ANT).

A principal component analysis [35] was applied to the whole dataset, with the mosquito species as the individuals and the mean ANTs of each species over the whole period by trap type, height (canopy versus ground) and site as variables, to explore the capture pattern of the various species and the correlations between the trapping systems.

The mean ANTs between sites or heights were compared altogether using a Kruskal-Wallis rank sum test [36], then using a Wilcoxon rank sum test [36].

The R software package was used for statistical analyses [37].

Acknowledgements

We thank Dr Yaya Thiongane, Dr Magatte Ndiaye, Dr Omar Talla Diaw, Dr Momar Talla Seck and Mr Iba Mall (ISRA-LNERV), Dr Ibrahima Dia (IPD), as well as Mr Abdou Fall, veterinary officer of Ross-Bethio. We are also thankful to Nicolas Gaidet for providing important data on the migration period of birds in our study area. This work was partially supported by the EU grant GOCE-2003-010284 EDEN; this paper is catalogued by the EDEN Steering Committee as EDEN0250 (<http://www.eden-fp6project.net/>). No additional external funding was received for this study. The contents are the sole responsibility of the authors and do not necessarily reflect the views of the European Commission. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Author details

¹Institut Sénégalais de Recherches Agricoles/Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires BP 2057 Dakar-Hann, Sénégal.

²Centre International en Recherche Agronomique pour le Développement

(CIRAD), UMR CIRAD-INRA Contrôle des maladies animales exotiques et émergentes, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France. ³CIRAD, UMR TETIS, Maison de la Télédetection, 34093 Montpellier Cedex 5, France. ⁴CIRAD, UR Animal et Gestion Intégrée des Risques (AGIRs), 34398 Montpellier Cedex 5, France. ⁵Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal. ⁶Department Environment and Societies, TREP Building, University of Zimbabwe, P.O. Box 1378, Harare, Zimbabwe.

Authors' contributions

AGF and AD designed and performed the experiment, and wrote the first draft of the manuscript. AT and VS designed the study area figure and documented it in the draft. AGF, RL and JB designed figures and performed statistical analyses. RL, JB, EE, OF and LK contributed to the manuscript redaction and revised it critically. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Received: 5 April 2011 Accepted: 8 June 2011 Published: 8 June 2011

References

- Callisher CH, Karabatsos N, Dalrymple JM, Shope RE, Porterfield JS, Westaway EG, Brandt WE: Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J Gen Virol* 1989, **70**:37-43.
- Hubalek Z, Halouzka J: West Nile virus - a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999, **5**:643-650.
- Chevalier V, Lancelot R, Dialte A, Mondet B, Lamballerie X: Use of sentinel chickens to study the transmission dynamics of West Nile virus in a Sahelian ecosystem. *Epidemiol Inf* 2008, **136**:525-528.
- Cabre O, Grandadam M, Marié JL, Gravier P, Prangé A, Santinelli Y, Rous V, Bourry O, Durand JP, Tolou H, Davoust B: West Nile Virus in horses, sub-Saharan Africa. *Emerg Infect Dis* 2006, **12**:1958-1960.
- Traore-Lamizana M, Zeller HG, Mondo M, Hervy JP, Adam F, Digoutte JP: Isolation of West Nile and Bagaza viruses from mosquito (Diptera: Culicidae) in central Senegal (Ferlo). *J Med Entomol* 1994, **31**:934-938.
- Rappole J, Derrickson S, Hubalek Z: Migratory birds and spread of West Nile virus in the western hemisphere. *Emerg Infect Dis* 2000, **6**:319-328.
- Chevalier V, Reynaud P, Lefrançois T, Durand B, Bailon F, Balança G, Gaidet N, Mondet B, Lancelot R: Predicting West Nile Virus Seroprevalence in Wild Birds in Senegal. *Vector-Borne Zoon Dis* 2009, **9**:589-596.
- Morel G: Contribution à la synécologie des oiseaux du Sahel sénégalais Paris, ORSTOM; 1968.
- Diallo D, Ba Y, Dia I, Sall AA, Diallo M: Evaluation of the efficiency of bird-baited traps for sampling potential West Nile fever mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Senegal. *Parasite* 2010, **17**:143-147.
- Chevalier V, Dupressoir A, Tran A, Diop OM, Gottland C, Diallo M, Etter E, Ndiaye M, Grosbois V, Dia M, et al: Environmental risk factors of West Nile virus infection of horses in the Senegal River basin. *Epidemiol Inf* 2010, **23**:1-9.
- Traore-Lamizana M, Fontenille D, Diallo M, Ba Y, Zeller HG, Mondo M, Adam F, Thonnon J, Maiga A: Arbovirus surveillance from 1990 to 1995 in the Barkedji area (Ferlo) of Senegal, a possible natural focus of Rift Valley fever virus. *J Med Entomol* 2001, **38**:480-492.
- Diallo M, Nabeth P, Ba K, Sall AA, Ba Y, Mondo M, Girault L, Abdalahi MO, Mathiot C: Mosquito vectors of the 1998-1999 outbreak of Rift Valley Fever and other arboviruses (Bagaza, Sanar, Wesselsbron and West Nile) in Mauritania and Senegal. *Med Vet Entomol* 2005, **19**:119-126.
- Williams GM, Gingrich JB: Comparison of light traps, gravid traps, and resting boxes for West Nile virus surveillance. *J Vect Ecol* 2007, **32**:285-291.
- CRORA database (Base de données sur les virus africains 2005): virus West Nile. [http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/virus/v010100.htm].
- Turell MJ, Mores CN, Dohm DJ, Lee W-J, Kim H-C, Klein TA: Laboratory transmission of Japanese Encephalitis, West Nile, and Getah viruses by mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected near Camp Greaves, Gyeonggi Province, Republic of Korea, 2003. *J Med Entomol* 2006, **43**:1076-1081.
- Jupp PG, McIntosh BM, Blackburn NK: Experimental assessment of the vector competence of *Culex (Culex) neavei* Theobald with West Nile and Sindbis viruses in South Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986, **80**:226-230.
- Morel G, Roux F: Les migrateurs paléarctiques au Sénégal. II. Passereaux et synthèse générale. *Rev Ecol (Terre Vie)* 1966, **2**:143-176.
- McCall PJ, Kelly DW: Learning and memory in disease vectors. *Trends Parasitol* 2002, **18**:429-433.
- Bouyer J, Pruvot M, Bengaly Z, Guerin PM, Lancelot R: Learning influences host choice in tsetse. *Biol Lett* 2007, **3**:113-116.
- McCall PJ, Moshia FW, Njunwa KJ, Sherlock K: Evidence for memorized site-fidelity in *Anopheles arabiensis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001, **95**:587-590.
- Mwandawiro C, Boots M, Tunoa N, Suwonkerdb W, Tsudaa Y, Takag M: Heterogeneity in the host preference of Japanese encephalitis vectors in Chiang Mai, Northern Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000, **94**:238-242.
- Reisen WK, Lothrop HD, Lothrop B: Factors Influencing the Outcome of Mark-Release-Recapture Studies with *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2003, **40**:820-829.
- Jackson CHN: The Economy of a Tsetse Population. *Bull Ent Res* 1941, **32**:53-55.
- Bouyer J, Balenghien T, Ravel S, Vial L, Sidibé I, Thévenon S, Solano P, De Meeus T: Population sizes and dispersal pattern of tsetse flies: rolling on the river? *Mol Ecol* 2009, **18**:2787-2797.
- Fall AG, Dialte A, Etter E, Bouyer J, Ndiaye TD, Konaté L: *Aedes vexans arabiensis* (Diptera, Culicidae) as a probable vector bridging West Nile virus between birds and horses in Barkedji (Ferlo, Senegal). *Med Vet Entomol* 2011.
- Morel G, Morel M-Y: Recherches écologiques sur une savane sahélienne du Ferlo septentrional, Sénégal. Etude d'une communauté avienne. *Cah ORSTOM, sér Biol* 1978, **133**:34.
- Hartemink NA, Davis SA, Reiter P, Hubalek Z, Heesterbeek JA: Importance of bird-to-bird transmission for the establishment of West Nile virus. *Vector-Borne Zoon Dis* 2007, **7**:575-584.
- Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ, Marra PP, Daszak P: West Nile Virus Epidemics in North America Are Driven by Shifts in Mosquito Feeding Behavior. *Plos Biol* 2006, **4**:e82.
- Sudia WD, Chamberlain RW: Battery-operated light trap, an improved model. *Mosq News* 1962, **22**:126-129.
- Balenghien T, Fouque F, Sabatier P, Bricout DJ: Horse-, bird-, and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *J Med Entomol* 2006, **43**:936-946.
- Darbro JM, Harrington LC: Bird-baited traps for surveillance of West Nile mosquito vectors: effect of bird species, trap height, and mosquito escape rates. *J Med Entomol* 2006, **43**:83-92.
- Edwards FW: Mosquitoes of the Ethiopian region. III. *Culicine Adults and Pupae*. London, British Museum (Natural History); 1941.
- Diagne N, Fontenille D, Konaté L, Faye O, Traore-Lamizana M, Legros F, Molez JF, Trape JF: Les anophèles du Sénégal. Liste commentée et illustrée. *Bull Soc Pathol Exot* 1994, **87**:267-277.
- Beier JC, Perkins PV, Wirtz RA, Koros J, Diggs D, Gargan TP, Koeh DK: Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. *J Med Entomol* 1988, **25**:9-11.
- Manly BFJ: *Multivariate statistical methods: a primer*. London, Chapman & Hall/CRC; 2005.
- Hollander M, Wolfe DA: *Non parametric statistical inference*. New York, John Wiley & Sons; 1973.
- R: A language and environment for statistical computing. [http://www.R-project.org].

doi:10.1186/1756-3305-4-99

Cite this article as: Fall et al.: Feeding behaviour of potential vectors of West Nile virus in Senegal. *Parasites & Vectors* 2011 **4**:99.

CHAPITRE 4 : RÔLE POTENTIEL D'*Aedes* (*Aedemorphus*) *vexans arabiensis* DANS LA TRANSMISSION DU VIRUS WEST NILE DANS LE FERLO, SENEGAL

Dans le système des mares temporaires du Ferlo, nous avons surtout mis l'accent sur un moustique particulièrement bien installé dans la région et incriminé dans la transmission locale de la West Nile : *Aedes vexans arabiensis*. A partir de repas de sang collectés aux alentours de deux mares temporaires et analysés par la technique ELISA, nous avons pu démontrer son rôle potentiel de vecteur pont communément appelé "bridge vector" dans la transmission du virus West Nile aux chevaux. Les implications dans l'épidémiologie de cette maladie ont également été discutées. La méthodologie et les résultats de cette étude sont présentés ici sous la forme d'un article publié dans la revue *Medical and Veterinary Entomology* (Fall *et al.* 2012) (Publication 3). A travers des observations faites sur la bio-écologie d'*Ae vexans arabiensis* sur le terrain et au laboratoire, nous avons pu émettre des hypothèses sur la connaissance de l'écologie des arbovirus potentiellement transmis par cette espèce et donc de leur maintien dans le milieu très hostile du Ferlo. Les résultats de cette étude sont présentés, discutés et des conclusions et des hypothèses émises, dans un article en préparation intégré dans ce document (Publication 4).



SHORT COMMUNICATION

The mosquito *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis* as a probable vector bridging the West Nile virus between birds and horses in Barkedji (Ferlo, Senegal)

A. G. FALL¹, A. DIAÏTÉ¹, E. ETTER², J. BOUYER^{1,3}, T. D. NDIAYE¹ and L. KONATÉ⁴

¹Institut Sénégalais de Recherches Agricoles/Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires (ISRA-LNERV), Service de Bio-Écologie et Pathologies Parasitaires, Dakar-Hann, Senegal, ²Centre International en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UPR AGIRs, Campus International de Baillarguet, Montpellier, France, ³Cirad, UMR CIRAD-INRA Contrôle des maladies animales, Campus International de Baillarguet, Montpellier, France and ⁴Département de Biologie Animale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Senegal

Abstract. Active catches of adult females of *Aedes vexans arabiensis* Patton, (Diptera: Culicidae) Patton by nets or aspirator, were conducted in 2003 and 2004 in the vegetation at the edge of temporary ponds in Barkedji, Senegalese Ferlo area. Two hundred and forty-one engorged females were captured, dissected and the gut content adsorbed on a Whatman filter paper and analysed using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique to determinate the bloodmeal origin. Results indicated that *Ae v. arabiensis* fed primarily on mammals, including horses (35.7% of the bloodmeals), but also on birds (10%). Moreover, associations between horses and birds accounted for 42% of the mixed bloodmeals. These results show an opportunistic feeding behaviour and suggest that *Ae v. arabiensis* is a probable vector bridging the West Nile virus between horses and birds hosts in the Ferlo area.

Key words. *Aedes vexans arabiensis*, Barkedji, birds, blood meal, mammals, vector, West Nile, Ferlo, Senegal.

Introduction

West Nile fever is a wide-spread viral zoonosis that affects humans, birds, domestic and wild mammals. It is mainly transmitted by mosquitoes from the *Culex* genus (Komar, 2003). Birds are the main biological amplifying hosts and are strongly incriminated in the dissemination of the virus through their migrations, for example in Romania (Savage *et al.*, 1999). Horses and humans can be infected but are considered as epidemiological impasses (Hubalek & Halouzka, 1999) because they do not often develop a viremia sufficient to perpetuate the virus transmission cycle. However, fatal febrile infections have been observed in humans (Petersen & Marfin, 2002).

In sub-Saharan Africa, notably in Senegal, West Nile fever is endemic in horses on which it has been found during serological investigation, with prevalence rates of 78.3 and 92%, respectively, by Chevalier *et al.* (2006) and Cabre *et al.* (2005). In addition, a serological West Nile investigation conducted in the Ferlo area showed a global prevalence rate of 5.5% on migratory and resident birds (Chevalier *et al.*, 2009).

Aedes vexans, represented here by the *arabiensis* Patton Afrotropical subspecies, is very closely related to the Palaearctic *Aedes vexans* Meigan commonly found in Europe, Asia, America and the Pacific (Edwards, 1941; White, 1975).

In spite of the fact that mosquitoes of the *Culex* genus are generally considered as the main vectors of West Nile (Hubalek & Halouzka, 1999; Komar, 2003), *Aedes v. arabiensis* could

Correspondence: Assane Gueye Fall, ISRA-LNERV, Route du Front de Terre, BP 2057, Dakar-Hann, Sénégal. Tel.: + 221 77 550 2870; Fax: +221 33 832 3679; E-mail: agueyefall@yahoo.fr

play the role of a secondary vector in the epidemiological cycles of the West Nile fever because of the following observations: (a) wild *Aedes v. arabiensis* were often found infected by the West Nile virus in Senegal (Digoutte, 1995; Fontenille *et al.*, 1998), and in the U.S.A. (for *Aedes vexans*) (Molaei & Andreadis, 2006); (b) *Aedes v. arabiensis*, which is one of the most abundant mosquitoes in the Ferlo area (Fontenille *et al.*, 1998; Mondet *et al.*, 2005), is well adapted to local conditions with a high survival rate and a high longevity in the field (Ba *et al.*, 2005) and showed a feeding tropism for both horses and birds (Fontenille *et al.*, 1995, 1998; Ba *et al.*, 2006); (c) although it has not been assessed for the *arabiensis* subspecies, the vector competence of *Aedes vexans* for the West Nile virus was experimentally demonstrated (Turell *et al.*, 2005; Tiawsirisup *et al.*, 2008).

Furthermore, a recent study of the host-feeding pattern of *Aedes v. arabiensis* in the same area clearly indicated its epidemiological importance in the transmission of Rift valley fever (Ba *et al.*, 2006) without making it clear for the West Nile fever. The knowledge of the host-feeding patterns of vector species constitutes a key element in the assessment of their epidemiological importance in a given environment. The present study on the host-feeding pattern of *Aedes v. arabiensis* is therefore a contribution to the assessment of this importance in the transmission of West Nile around temporary ponds in the Ferlo area of Senegal.

Materials and methods

Study area

Barkedji ($15^{\circ}16'78''\text{N}$, $14^{\circ}52'07''\text{W}$) is located in the Ferlo area, department of Linguere, region of Louga. The climate is Sahelian, marked by two seasons: the rainy season from June–July to October and the dry season from November to May–June, according to the year. The mean annual rainfalls vary between 300 and 400 mm (Fig. 1) and permanent rivers are absent. Only fossil valleys are found, relics of old rivers that flowed through the region in the past. The Barkedji area is strewn with clay depressions forming temporary ponds which duration depends on the annual rainfalls, evapotranspiration and infiltration (Diop, 2004). Ngao ($15^{\circ}14'27''\text{N}$, $14^{\circ}51'08''\text{W}$) and Kangaedji ($15^{\circ}16'17''\text{N}$, $14^{\circ}50'35''\text{W}$) are two temporary ponds located in the Barkedji rural community near settlements with the same name, and served as sampling sites (Fig. 2).

Bloodmeal analysis

Resting mosquitoes were captured in the vegetation bordering ponds by aspiration or by using an insect net in 2003 (July, August and October) and 2004 (July and August 2004).

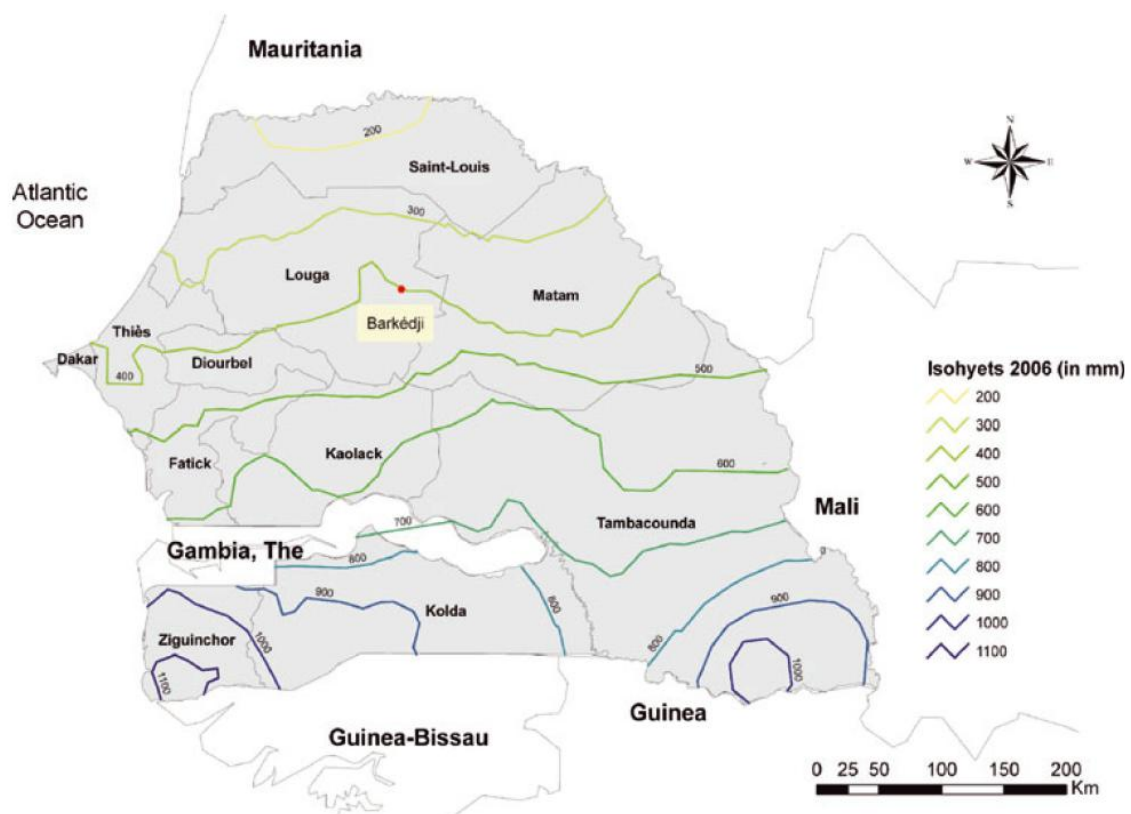


Fig. 1. Map of Senegal with the isohyets for the year 2006 and the location of the Barkedji area.

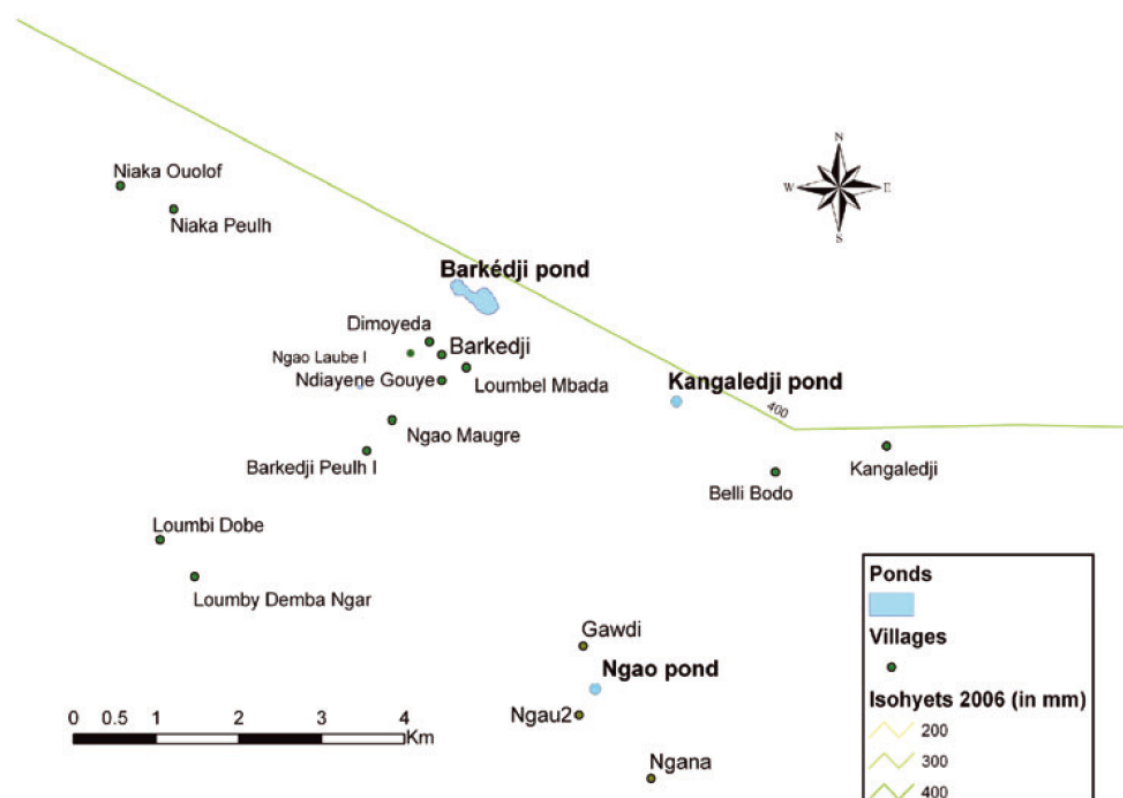


Fig. 2. Map of Barkedji with the location of the sampling sites.

Engorged *Ae. v. arabiensis* females were dissected, the gut content stained on filter paper and stored at -20°C . The samples were analysed with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) protocol developed by Beier *et al.* (1988) and modified by Fontenille (unpublished data). The choice of antibodies was done taking into account the potential hosts of *Aedes v. arabiensis* which frequent the ponds and the neighbouring settlements, such as humans and domestic animals. The following peroxidase antibodies obtained from the Sigma-Aldrich laboratories (Steinheim, Germany) were thus used: anti-human IgG, anti-sheep IgG, anti-goat IgG, anti-bovine IgG, anti-chicken IgG, anti-dog IgG and anti-horse IgG. Positive controls (blood spots of 5 μL placed on filter paper) were collected from animals in a slaughterhouse in Dakar, in a veterinary clinic and in the Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires. Chicken serum was used as a negative control for mammals and bovine serum as a negative control for the chicken. Cross dilutions were performed in preliminary tests to determinate the optimal dilutions for bloodmeals and antibodies. The spots of collected blood were cut out as small discs (≈ 5 mm in diameter). Each disc was put in a 1.4-mL U-bottom tube range (Micronic Systems, Lelystad, the Netherlands) and blood from the filter paper was eluted with 1 mL of phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4, and left for 1 h at room temperature (25°C). Each tube was then homogenized and the disc of filter paper was stirred inside and removed. Except the first column (Blanks), 50 μL of the positive control,

the negative control and bloodmeals solutions were distributed in two contiguous well of the 96F MaxiSorp nunc immuno plates (ThermoFisher Scientific, Roskilde, Denmark) which were covered and incubated at 4°C overnight. The next morning each well was washed twice with 300 μL of PBS, pH 7.4, containing 0.05% Tween 20. Then, 50 μL of a mixed solution of peroxidase host-specific conjugate (at indicated dilution), dilutions of heterologous sera (1/1000) (except between sheep and goat) and bloodmeal buffer solution were added to each well except in the blank column. For 0.5 L of blood meal buffer, 2.5 g of casein was added in 50 mL of 0.1N NaOH (boiled until dissolution) + 450 mL of PBS 0.05% Tween 20 + 0.05 g of Thiomerasal + 0.01 g of red Phenol. After 1-h incubation at room temperature, wells were emptied and washed four times with PBS 0.05% Tween 20. Equal volumes of TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) peroxidase substrate (Kirkegaard & Perry Laboratories, Maryland) and peroxidase solution B (H_2O_2) (Kirkegaard & Perry Laboratories, Maryland) were mixed and added to each well (50 μL) of all the plates. Then the plate was covered and incubated in the dark for 30 min at room temperature. Positive wells will be coloured in blue. The addition of 50 μL 4N H_2SO_4 showed a yellow colour in positive wells. Absorbance was read at 450 nm with the ELISA reader Multiskan Ascent (Thermo Labsystems, Helsinki, Finland). Samples with absorbance values upon the mean of negative controls + 2.5 times the standard deviation (SD) were considered positive. However, in such tests, sheep

and goat antibodies are known to cross-react. As a precaution the results of bloodmeals taken from goat and sheep were pooled as bloodmeals taken from small ruminant.

The percentage of unmixed bloodmeals on each host in each site was calculated as the ratio of the number of bloodmeals taken on that host on the total number of samples, including mixed meals. The percentage of mixed bloodmeals in each site was calculated as the ratio of the number of mixed meals on the total number of samples.

Results

The origin of the bloodmeal was successfully determined for 97% of the samples (241 blood meals). The 3% remaining could not be determined with the antibodies listed upon. From the 234 identified bloodmeals, 196 (83.8%) were simple meals. Only four (2%) were taken on humans, giving a high zoophilic rate of 98% (192 bloodmeals). Overall, the determined animal hosts were horses (35.7% of the bloodmeals), cattle (16.6%), small ruminants (17.0%), birds (10.0%) and dogs (0.4%) (Table 1).

In total, 38 bloodmeals (15.7% of the identified samples) were from a mixed origin and came from two, three and four different hosts in 32 (84.2%), 5 (13.2%) and 1 (2.6%) cases, respectively. Mixed meals involving birds and horses were the most frequent ones, with 16 (42.1%) multiple meals, whereas only 6 (15.8%) bloodmeals associating birds with other mammals (small ruminant, bovine and humans) were observed (Table 2).

Discussion

In the present study, approximately 1 bloodmeal over 10 identified was taken from birds, 1 over 3 from horses, 2 mixed bloodmeals over 5 associated horses and birds and 1 over 7 associated birds and other mammals including humans.

These results are similar to those of Fontenille *et al.* (1998) who found 6.2 and 33.6% of *Ae. v. arabiensis* females fed on chicken and horse, respectively, in Barkedji. By contrast to these observations, Ba *et al.* (2006) found that only 0.3% of *Aedes v. arabiensis* fed on chicken and almost the same percentage as the previous studies on horses (33.7%) in the Niakha temporary pond, which is close to the study area. This shows that the feeding behaviour of *Ae. v. arabiensis*,

Table 2. Bloodmeals from mixed origins: hosts associated with *Ae. vexans arabiensis* females caught at the edges of the Ngao and Kangaedji temporary water ponds.

	Collection site		Total Nb (%)
	Ngao Nb (%)	Kangaedji Nb (%)	
Mixed bloodmeals			
Small ruminant–bovine	5 (50.0)	2 (7.1)	7 (18.4)
Small ruminant–horse	0 (0.0)	1 (3.6)	1 (2.6)
Human–horse	1 (10)	4 (14.3)	5 (13.2)
Birds–bovine	3 (30)	1 (3.6)	4 (10.5)
Birds–horse	1 (10)	14 (50.0)	15 (39.5)
Dog–human–horse	0 (0.0)	2 (7.1)	2 (5.3)
Small ruminant–bovine–horse	0 (0.0)	2 (7.1)	2 (5.3)
Small ruminant–birds–bovine	0 (0.0)	1 (3.6)	1 (2.6)
Human–birds–horse–small ruminant	0 (0.0)	1 (3.6)	1 (2.6)
Total	10	28	38

and thus its importance as a bridging vector between horses and birds, may be heterogeneous in space and time, according to the hosts' relative availability and given the opportunistic feeding behaviour of this species. Indeed, in the ecosystem of Barkedji, the arrival of migratory birds is closely related to the filling of temporary ponds at the beginning of the rainy season. Moreover, regular rainfalls would limit the vectorial role of *Ae. v. arabiensis* to the first half of the rainy season, corresponding to its peak of abundance; *Culex* mosquitoes would then take over during the remaining part of the rainy season. On the other hand, a season with irregular rainfalls would promote several peaks of abundance of *Ae. v. arabiensis* (Mondet *et al.*, 2005), extending its involvement in the transmission of WNV, together with *Culex* mosquitoes. Hence, the weak prevalence rates obtained by Chevalier *et al.* (2009) could result from the seasonality of transmission which occurs in this area.

The high frequency and heterogeneity of mixed bloodmeals, especially in early winter (from late July to early August 2004), could be related to the scarcity of hosts. Indeed, the beginning of the rainy season in Barkedji is characterized by a low population of domestic hosts, whose return from transhumance is closely related to the establishment of the rainy season. Thus, the few animals available are overexposed to the bites of a high population density of *Ae. v. arabiensis*, fastly growing thanks to stocks of eggs from the previous rainy season. The self-defence reflexes developed by such animals may even

Table 1. Origin of bloodmeals collected from resting *Aedes vexans arabiensis* females caught on the edges of the Kangaedji and Ngao temporary water ponds.

Location	Total number of samples	Vertebrate hosts (%)						Mixed bloodmeals (%)	Not identified blood meals (%)
		Horse	Bovine	Small ruminant	Birds	Human	Dog		
Ngao	140	44 (31.4)	30 (21.4)	30 (21.4)	14 (10.0)	4 (3.0)	1 (0.7)	10 (7.1)	7 (5.0)
Kangaedji	101	42 (41.6)	10 (9.9)	11 (10.9)	10 (9.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	28 (27.7)	0 (0)
Total	241	86 (35.7)	40 (16.6)	41 (17.0)	24 (10.0)	4 (1.7)	1 (0.4)	38 (15.7)	7 (2.9)

increase the rate of interrupted bloodmeals, favouring shifts between host species. This further illustrates the opportunism of *Aedes v. arabiensis*. The high rate of mixed meals also suggest that host-fidelity is not likely to occur in this species, unlike what is observed in other vectors (Bouyer *et al.*, 2007), or that its impact is lowered by starvation.

The endemicity of the West Nile virus in a given location is perpetuated through a cycle between wild birds and mosquitoes mainly from the *Culex* genus. Serological studies conducted in the Ferlo area of Senegal and the Senegal River valley identified 13 bird species, including 5 migratory species, as potential reservoirs of the West Nile virus (Chevalier *et al.*, 2009). In such a cycle, mosquitoes that predominantly ornithophile will, therefore, be the most efficient in maintaining the virus. This is the case of *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus in the U.S.A. (Hamer *et al.*, 2009). By contrast, opportunistic mosquitoes such as *Aedes v. arabiensis*, which feed on a wide range of hosts (especially mammals and birds), may be less effective in maintaining the West Nile virus between birds but could be good bridging vectors by feeding on viremic birds and subsequently on susceptible hosts such as humans and horses (Molaei & Andreadis, 2006; Hamer *et al.*, 2009).

In the context of the Ferlo, if *Aedes vexans arabiensis* is as competent as *Ae. vexans* in the transmission of the WN virus (Turell *et al.*, 2005; Tiawisirup *et al.*, 2008), our observation (*Ae. v. arabiensis* feed both on birds and horses) combined with numerous West Nile virus isolations (Digoutte, 1995; Fontenille *et al.*, 1998), the high population densities of this mosquito in the area (Mondet *et al.*, 2005) and its good adaptation to local conditions (Ba *et al.*, 2005), strongly support the hypothesis that *Aedes v. arabiensis* is a bridge vector for the West Nile virus in Barkedji.

Finally, without excluding possible cross reactions the specific antibodies used showed a good specificity. However, the use of more specific tests such as cytochrome B heteroduplex analysis (Boakye *et al.*, 1999) would be interesting to confirm our results. Further studies are also needed to assess the vector competence of *Aedes v. arabiensis* for WNV to confirm its role in the epidemiology of West Nile fever in the Ferlo area. Actually, WNV isolation from this species does not necessarily imply that it is a competent WNV vector but sometimes simply that it fed on viremic hosts.

Acknowledgements

We thank Mrs Mariame Diop and Dr Arona Gueye from LNERV, Dr Bernard Mondet (IRD), Pr Rianatou Alamdédji (EISMV), Dr Nicolas Diouf and Mr Thomas Manga (Ministère de l'Elevage du Senegal), and all the population of Barkedji for their collaboration. This work was partially funded by the CORUS project (Ministère des Affaires Etrangères, French) and GOCE-2003-010284 EDEN grants. It is catalogued by the EDEN Steering committee as EDENxxxx (<http://www.edenfp6project.net/>). The contents are the sole responsibility of the authors and do not necessarily reflect the views of the European Commission.

References

- Ba, Y., Diallo, D., Kebe, C.M.F., Dia, I. & Diallo, M. (2005) Aspects of bioecology of two Rift Valley Fever Virus vectors in Senegal (West Africa): *Aedes vexans* and *Culex poicilipes* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **42**, 739–750.
- Ba, Y., Diallo, D., Dia, I. & Diallo, M. (2006) Comportement trophique des vecteurs du virus de la fièvre de la vallée du Rift au Sénégal : implications dans l'épidémiologie de la maladie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **99**, 283–289.
- Beier, J.C., Perkins, P.V., Wirtz, R.A. *et al.* (1988) Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. *Journal of Medical Entomology*, **25**, 9–16.
- Boakye, D.A., Tang, J., Truc, P., Merriweather, A. & Unnasch, T.R. (1999) Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Medical and Veterinary Entomology*, **13**, 282–287.
- Bouyer, J., Pruvot, M., Bengaly, Z., Guerin, P.M. & Lancelot, R. (2007) Learning influences host choice in tsetse. *Biology Letters*, **3**, 113–116.
- Cabre, O., Durand, J.P., Prange, A. *et al.* (2005) Infection par le virus West Nile : enquêtes sérologiques sur des chevaux en France et en Afrique. *Médecine Tropicale*, **65**, 439–443.
- Chevalier, V., Lancelot, R., Diaite, A., Mondet, B., Sall, B. & De Lamballerie, X. (2006) Serological assessment of West Nile fever virus activity in the pastoral system of Ferlo, Senegal. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1081**, 216–225.
- Chevalier, V., Reynaud, P., Lefrançois, T. *et al.* (2009) Predicting West Nile virus seroprevalence in wild birds in Senegal. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **9**, 589–596.
- Digoutte, J.P. (1995) Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar.
- Diop, B. (2004) Caractérisation hydrodynamique de quelques mares temporaires dans la zone de Barkedji. Mémoire de fin d'études, ENSA, Thiès.
- Edwards, F.W. (1941) *Mosquitoes of the Ethiopian Region III. Culicine Adults and Pupae*. British Museum Natural History, London.
- Fontenille, D., Traore-Lamizana, M., Zeller, H., Mondo, M., Diallo, M. & Digoutte, J.P. (1995) Rift Valley fever in Western Africa: isolations from *Aedes* mosquitoes during an interepizootic period. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **52**, 403–404.
- Fontenille, D., Traore-Lamizana, M., Diallo, M., Thonnon, J., Digoutte, J.P. & Zeller, H.G. (1998) New vectors of Rift Valley fever in West Africa. *Emerging Infectious Diseases*, **4**, 289–293.
- Hamer, G.L., Kitron, U.D., Goldberg, T.L. *et al.* (2009) Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile virus amplification. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **80**, 268–278.
- Hubalek, Z. & Halouzka, J. (1999) West Nile fever—a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, **5**, 643–650.
- Komar, N. (2003) West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Advances in Virus Research*, **61**, 185–234.
- Molaei, G. & Andreadis, T.G. (2006) Identification of avian- and mammalian-derived bloodmeals in *Aedes vexans* and *Culiseta melanura* (Diptera: Culicidae) and its implication for West Nile virus transmission in Connecticut, U.S.A. *Journal of Medical Entomology*, **43**, 1088–1093.
- Mondet, B., Diaite, A., Fall, A.G. & Chevalier, V. (2005) Relations entre la pluviométrie et le risque de transmission virale par les

- moustiques : cas du virus de la Rift Valley Fever (RVF) dans le Ferlo (Sénégal). *Environnement, Risques & Santé*, **4**, 125–129.
- Petersen, L.R. & Marfin, A.A. (2002) West Nile virus: a primer for the clinician. *Annals of Internal Medicine*, **137**, 173–179.
- Savage, H.M., Ceianu, C., Nicolescu, G. *et al.* (1999) Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **61**, 600–611.
- Tiawsirisup, S., Kinley, J.R., Tucker, B.J., Evans, R.B., Rowley, W.A. & Platt, K.B. (2008) Vector competence of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae) for West Nile virus and potential as an enzootic vector. *Journal of Medical Entomology*, **45**, 452–457.
- Turell, M.J., Dohm, D.J., Sardelis, M.R., O'Guinn, M.L., Andreadis, T.G. & Blow, J.A. (2005) An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *Journal of Medical Entomology*, **42**, 57–62.
- White, G.B. (1975) Notes on a catalogue of Culicidae of the Ethiopian region. *Mosquito Systematics*, **7**, 303–344.

Accepted 22 March 2011

First published online 25 July 2011

Publication 4 : Ecologie d'*Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis*, Patton 1905 (Diptera: Culicidae) dans une région sahélienne : observations croisées entre travaux de terrain et de laboratoire, (en préparation)

AG Fall, A Diaïté

Résumé

Dans le système des mares temporaires du Ferlo, *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis* est un vecteur potentiel de la fièvre de la vallée du Rift et un potentiel vecteur pont du virus de la fièvre du Nil occidental. Deux années d'études des dynamiques de populations de cette espèce en rapport avec les facteurs climatiques et environnementaux ont permis de faire des observations sur son écologie ; particulièrement sur les relations entre lieux de reproduction et écosystème. Des femelles gorgées ont été capturées au bord de la mare grâce à un aspirateur électrique puis ont été mises dans des cages dans lesquelles ont été placées différents types de pondoires. Les particularités écologiques des lieux de captures ont aussi été notées. Les observations ainsi faites sur le terrain ont pu être mieux précisées en laboratoire, donnant lieu à une meilleure compréhension de sa bio écologie dans les conditions arides du sahel. Les informations ainsi recueillies sur l'écologie de ce vecteur pourraient être utilisées dans la compréhension de l'écologie des virus transmis par ce vecteur, notamment son maintien pendant la saison défavorable, et dans des tentatives de développement de modèles mathématiques de dynamique de populations de vecteurs.

1. INTRODUCTION

Les moustiques des zones inondables du genre *Aedes* et plus particulièrement l'espèce *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis* sont particulièrement abondants au cours de la première moitié de la saison des pluies dans la région du Ferlo du Sénégal (Mondet *et al.*, 2005a; Mondet *et al.*, 2005b). Le Ferlo est caractérisé par une multitude de mares temporaires qui se trouvent soit dans le berceau d'une rivière fossile portant le même nom, soit à l'extérieur du bassin hydrographique. Des foyers épidémiques de fièvre de la vallée du Rift (FVR) ont été signalés dans la région et *Ae. vexans arabiensis* a été parmi les espèces soupçonnées comme vecteurs probables (Fontenille *et al.*, 1998). L'implication d'*Ae. vexans arabiensis* dans la transmission de cette maladie hors des frontières africaines a également été soulignée au cours de l'année 2000. Ainsi, des épidémies de FVR ont été, pour la première fois, rapportées en

dehors du continent africain dans la péninsule arabique. *Aedes vexans arabiensis* a aussi été suspecté comme étant vecteur (Miller *et al.*, 2002), puisque des femelles de l'espèce ont été trouvés infectées par le virus. En outre, ce moustique semble également jouer le rôle de vecteur pont entre les oiseaux et les chevaux dans la transmission du virus du Nil occidental dans la région du Ferlo (Fall *et al.*, 2012).

Dans cette région aride, l'espèce *Ae. vexans arabiensis* survit à la longue saison sèche défavorable (de novembre à mai) sous la forme de ses œufs embryonnés connus pour résister à la dessiccation jusqu'à ce que les conditions environnementales redeviennent favorables à leur éclosion.

Les mares temporaires du Ferlo sont inondées en juin/juillet après les premières pluies importantes (précipitations d'au moins 20mm) de chaque nouvelle saison (Mondet *et al.*, 2005b). A partir de ces pluies efficaces, une partie importante des œufs pondus la saison précédente pourra ainsi connaître un développement rapide jusqu'au stade adulte (cinq à six jours). Les femelles issues de ce stock d'œufs vont commencer à pondre des œufs qui vont constituer un nouveau stock au fur et à mesure que le niveau de l'eau de la mare diminue. Les femelles sont en effet connues pour pondre leurs œufs sur le sol à la limite de l'eau des mares (Mondet *et al.*, 2005a; Mondet *et al.*, 2005b). Strickman (1980) a souligné l'importance de l'humidité dans le choix des sites de ponte chez *Ae. vexans*. Le choix des sites de ponte est fortement tributaire d'indices basés principalement sur les facteurs environnementaux (O'Malley, 1990a) et selon Horsfall *et al.* (1975), l'humidité du support de ponte constituerait le facteur le plus attractif pour les femelles gravides. Dans les conditions de la région du Ferlo, la principale caractéristique est l'absence totale des formes imago d'*Ae. vexans arabiensis* pendant toute la saison sèche, montrant ainsi que les œufs représentent la forme de maintien de cette espèce et, probablement, une des formes de persistance des virus qu'elle transmet dans la région. La transmission verticale du virus West Nile a été clairement démontré chez les moustiques Culicidae du genre *Culex* (*Culex tarsalis*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex univittatus* et *Culex pipiens*) (Miller *et al.*, 2000; Turell *et al.*, 2001; Goddard *et al.*, 2003) et du genre *Aedes* (*Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*) (Baqar *et al.*, 1993). C'est probablement de cette manière que les virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift (FVR) persistent chez *Ae. vexans arabiensis* dans la région même si pour ce dernier virus la transmission verticale n'a été démontrée que chez *Ae. mcintoshi* au Kenya (Linthicum *et al.*, 1985).

Les dynamiques de production des moustiques sont, entre autres, des données primaires nécessaires pour construire des modèles prédictifs de survenue de la maladie. Un affinement

des connaissances sur l'écologie de cette espèce pourrait aider à la modélisation de la production de moustiques et, à la mise en place de systèmes de contrôle des moustiques plus respectueux de l'environnement, sans pour autant affecter leur efficacité.

2. MATERIEL ET METHODES

Au cours d'une étude étalée sur deux ans (2002, 2003) dans la région du Ferlo (Sénégal), visant à la compréhension de la bio-écologie des espèces et des déterminants du contact hôte vecteur, il a été observé que les femelles gorgées et des femelles gravides pourraient être activement capturées avec un aspirateur électrique de deux manières. Soit dans des trous peu profonds, situés à quelques mètres du lit de la mare, laissés par le ruissellement des eaux de pluie, soit au bord de la mare dans les empreintes de pattes laissées par le bétail venu s'abreuver (Photo 8).



Photo 8: Empreintes de pattes de bovins venus s'abreuver dans une mare à Barkédji

(Cliché A. Diaité 2003)

Les trous peu profonds sont caractérisés par de l'humidité sans excès d'eau, leur position à l'abri de lumière grâce à la couverture végétale tandis que les marques des pattes avec un peu d'eau au fond, pourraient être considérés comme des mares en miniature. Ces observations ont ensuite été utilisées pour rechercher des œufs pendant la saison sèche par la collecte d'échantillons de sol à partir de ces sites précis. Les échantillons de sol ont été prélevés au mois d'avril 2005 pendant une semaine par raclage ou par carottage au niveau de ces sites et transférés au laboratoire. Au total, une vingtaine d'échantillons (10 sur les marques, 10 les trous de ruissellement) a été prélevé dans ces potentiels gîtes de ponte. Une fois au laboratoire,

chaque échantillon collecté a été homogénéisé et un sous-échantillon d'environ 500g a été prélevé, étalé dans un bac et immergé avec de l'eau déminéralisée. La température ambiante a été maintenue à $30,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ et l'humidité relative à $80 \pm 5\%$ au cours des expériences.

Dans le but de tenter la colonisation de l'espèce en laboratoire, des observations ont également été faites sur différents types de pondoirs et sur les éclosions spontanées. Ainsi, deux types de pondoirs ont été utilisés: *i*) des pots ont été tapissés de matière plastique de couleur noire sur la paroi extérieure pour créer une pénombre à l'intérieur et avec du papier filtre de type Whatmann sur la paroi intérieure trempé dans environ 1cm d'eau déminéralisée pour garder le papier humide par capillarité et; *ii*) des pots contenant de la boue en provenance des mares dans lequel un trou a été creusé au milieu. Certains pots de ce second type de pondoir contiennent une certaine quantité d'eau ($\approx 5\text{ml}$) dans le trou tandis que les autres sont maintenus humides par aspersion d'eau à l'aide d'une pissette. Au final, trois types de pondoirs ont donc été testés. Un premier lot de 80 femelles gorgées et un autre de 158 femelles gorgées d'*Ae. vexans arabiensis* ont été collectés par aspiration dans un piège à appât mouton les 21/08/2004 et 28/08/2004 respectivement, et placées chacun dans une cage (30x30x30cm) avec les trois types de pondoirs décrits ci-dessus et un flacon contenant du jus sucré à 10%. Les cages ont été suivies tous les jours du 21/08/2004 au 05/09/2004 pour dénombrer les moustiques morts et observer et noter les pontes quotidiennes pendant une semaine. Cette expérience a été menée dans notre laboratoire de terrain situé près de la mare temporaire de Barkedji ($\approx 150\text{m}$). La température ambiante et l'humidité relative ont été collectées par une mini station météo de modèle WM 918 (Skyview system Ltd)(Photo 9).



Photo 9: Station météo installée au bord d'une mare à Barkédji (Cliché B Mondet 2002).

3. RESULTATS

Sur le terrain, la température moyenne quotidienne était de $30,8 \pm 8,5^{\circ}\text{C}$ et l'humidité relative quotidienne moyenne de $66,5 \pm 29,5\%$.

Lorsque les échantillons de sol récoltés au niveau de la mare ont été mis dans de l'eau déminéralisée au laboratoire, deux types d'informations ont été obtenues: *i)* la dizaine d'échantillons (deux répliquas par échantillon) de sol prélevée par raclage ou carottage des empreintes de pattes de bétail au bord de la mare n'a pas produit de larves, malgré trois mises en eau successives séparées par un assèchement de 10 jours entre elles ; *ii)* pour ce qui est des 10 échantillons de sol provenant de parois intérieures de trous causés par le ruissellement des eaux de pluie, l'éclosion des œufs a eu lieu et le cycle de développement a pu être suivi jusqu'au stade adulte. Les moustiques qui ont émergés ont été tous identifiés comme se référant à l'espèce *Ae vexans arabiensis*.

Dans le processus de colonisation d'*Ae. vexans arabiensis* au laboratoire, des œufs ont été obtenus à partir de femelles gorgées capturées avec un aspirateur et mises dans des cages contenant les trois types de pondoires décrits ci-haut. Trois observations ont été faites: *i)* dans la cage contenant un pot avec du papier filtre comme unité de ponte, quelques œufs seulement ont été retrouvés, *ii)* dans la cage avec des pondoires contenant de la boue, les œufs sont pondus en plus grand nombre (environ 10 fois plus que dans le pondoire avec papier filtre), avec toutefois une préférence pour le pondoire contenant de la boue et une petite quantité d'eau (trois fois plus de pontes) que pour le pondoire ne contenant que de la boue, *iii)* dans les pondoires papier filtre+eau comme dans les pondoires boue+eau, des éclosions spontanées ont eu lieu huit (8) jours après le début des pontes sur une partie des œufs pondus.

4. DISCUSSION

Tel que documenté dans la transmission du virus de la fièvre jaune par *Ae. aegypti* (Fontenille *et al.*, 1997), la transmission verticale du virus (transmission du virus d'une femelle à sa descendance) pourrait se produire également avec le virus de la West Nile (WN) et celui de la fièvre de la vallée du Rift (FVR). Pour le virus West Nile, il a été montré qu'il pouvait être transmis verticalement chez *Culex tritaeniorhynchus*, *Culex pipiens*, *Culex tarsalis*, *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* (Baqar *et al.*, 1993; Dohm *et al.*, 2002; Goddard *et al.*, 2003), et pourrait de la même manière l'être chez *Aedes vexans arabiensis*. La transmission verticale du virus de la fièvre de la vallée du Rift n'a été jusque là démontrée que chez *Aedes mcintoshi* en Afrique tropicale notamment au Kenya (Linthicum *et al.*, 1985). Si tel est le cas chez *Aedes vexans arabiensis*, alors ses œufs pourraient jouer un rôle dans l'endémisation de ces maladies

dans des endroits où ces virus ont été signalés. Les facteurs et les conditions favorables à la ponte et à la transformation dynamique des œufs par la dessiccation et le régime pluviométrique caractérisé par des précipitations efficaces suivies d'émergences constituent les éléments clés de tels mécanismes (Mondet *et al.*, 2005a; Mondet *et al.*, 2005b).

A partir des observations faites dans cette étude, nous pouvons retenir comme première hypothèse que les pontes faites sur les berges de la mare (par exemple sur les marques de pattes de bovins) participeraient pour très peu au maintien d'*Aedes vexans arabiensis* dans le système des mares temporaires du Ferlo. En effet, les œufs pondus dans ces gîtes de repos et/ou de ponte pourraient éclore spontanément dans la mesure où les conditions restent favorables à leur éclosion, réduisant ainsi les stocks d'œufs dans ces endroits. D'où l'absence de développement larvaire sur les échantillons de terre prélevés. La deuxième hypothèse est que les œufs pondus sur les parois intérieures des trous causés par le ruissellement des eaux de pluie et bordés de végétation herbacée représentent les plus importants stocks d'œufs permettant le maintien de l'espèce dans cet écosystème aride, comme le montrent les pondoirs boue+eau et les échantillons de sol collectés sur ces trous. Le dépôt et la maturation des œufs dans ces trous contribuent au maintien des stocks d'œufs à partir desquels seront issues de nouvelles populations au début d'une nouvelle saison des pluies. Une étude réalisée en Afrique du Sud a, cependant, montré que les plus grands stocks d'œufs d'*Aedes* ont été trouvés sur les plus bas niveaux des mares temporaires asséchées (Gargan *et al.*, 1988).

Dans le Ferlo le développement larvaire d'*Aedes vexans arabiensis* dure entre 4 et 5 jours puis apparaissent les femelles néonates qui persistent pendant une dizaine de jours dans le milieu (Mondet *et al.*, 2005a; Mondet *et al.*, 2005b). La dynamique des populations d'*Ae. vexans arabiensis* dans le Ferlo est caractérisée par l'apparition de pics de moustiques nullipares après les premières pluies importantes et à tout autre moment de la saison des pluies si l'écart entre deux précipitations successives (pause pluviométrique) dure plus d'une semaine (Mondet *et al.*, 2005a). Ceci indiquerait que les éclosions spontanées sont des phénomènes marginaux influant très peu dans l'apparition des pics de populations parce que seules de petites quantités d'œufs sont concernées, comme nous l'avons observé dans les pondoirs au laboratoire. Ceci reste évidemment à confirmer par d'autres expériences plus ciblées.

Nos observations sont également en phase avec celles de O'Malley (1990b) indiquant que les œufs sont pondus sur le sol humide mais pas gorgé d'eau. Le fait que les œufs soient trouvés seulement dans les trous laissés par l'écoulement des eaux de ruissellement est également en accord avec les observations faite par Horsfall *et al.* (1973) qui indiquent que la couverture

végétale dense du sol, et la couverture herbacée sont généralement associées à de grands nombres d'œufs.

5. CONCLUSION

Nos observations préliminaires indiquent que, bien que les pontes puissent avoir lieu au bord de la mare (interface sol-eau), elles joueraient un rôle marginal dans le maintien d'*Aedes vexans arabiensis*. La connaissance des sites de ponte possibles d'*Ae. vexans arabiensis* pourrait être utile dans la lutte contre ce moustique et des arbovirus transmis dans une région aride comme le Ferlo, en utilisant des méthodes de contrôle respectueuses de l'environnement. Les mares représentent, en effet, d'importantes sources d'approvisionnement en eau pour les populations humaines et animales dans le Ferlo au cours de la saison des pluies et au-delà, pour celles qui ont de grandes réserves. Par conséquent, il est déconseillé d'utiliser des méthodes de contrôle basées sur les insecticides aux environs de ces points d'eau. Des méthodes de lutte basées sur la gestion environnementale consistant à modifier l'environnement pour priver le vecteur ciblé des conditions favorables à sa survie pourraient ainsi être mise en oeuvre. Ces méthodes pourraient consister au remblayage et au nivellement des gîtes de ponte et au drainage des eaux. Ce qui semble difficile à réaliser vu la multitude de mares temporaires en saison des pluies dans le Ferlo.

Si l'hypothèse de la transmission verticale des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift reste valable chez *Ae. vexans arabiensis* dans le Ferlo, ces résultats contribuent à la connaissance de l'écologie de ces virus dans ce milieu aride où ils sont endémiques.

Les modèles de prédiction de la dynamique des populations d'*Aedes vexans arabiensis* prennent en compte des facteurs importants dans les fluctuations du niveau de l'eau des mares. Ces facteurs sont la pluviométrie, la profondeur de la mare et la taille de la surface couverte. Si l'on considère que les femelles d'*Aedes vexans arabiensis* pondent sur les endroits humides à la lisière des eaux, les mares peu profondes donc à grandes fluctuations des surfaces inondables seront les plus productives. D'après nos observations et résultats, il apparaît aussi que les moustiques du genre *Aedes spp* se développent bien dans ce type de mare en plus de la composante végétation autour des mares qui semble déterminant sur le choix des gîtes de ponte. C'est plutôt donc la fluctuation de la surface inondable de la mare que sa profondeur qui constitue un élément clé à prendre en compte dans l'élaboration de modèles mathématiques de prédiction de la production des moustiques *Aedes*.

6. Références bibliographiques

- BAQAR, S., HAYES, C. G., MURPHY, J. R. & WATTS, D. M. (1993). Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **48**, 757–762.
- DOHM, D. J., SARDELIS, M. R. & TURELL, M. J. (2002). Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **39**, 640–644.
- FALL, A. G., DIAÏTÉ, A., ETTER, E., BOUYER, J., NDIAYE, T. D. & KONATÉ, L. (2012). The mosquito *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis* as a probable vector bridging West Nile virus between birds and horses in Barkedji (Ferlo, Senegal). *Medical and Veterinary Entomology* **26**, 106–111.
- FONTENILLE, D., DIALLO, M., MONDO, M., NDIAYE, M. & THONNON, J. (1997). First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti*, its epidemic vector. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **91**, 533–535.
- FONTENILLE, D., TRAORE-LAMIZANA, M., DIALLO, M., THONNON, J., DIGOUTTE, J. P. & ZELLER, H. G. (1998). New vectors of Rift Valley fever in West Africa. *Emerging Infectious Diseases* **4**, 289–293.
- GARGAN, T. P. N., JUPP, P. G. & NOVAK, R. J. (1988). Panveld oviposition sites of floodwater *Aedes* mosquitoes and attempts to detect transovarial transmission of Rift Valley fever virus in South Africa. *Medical and Veterinary Entomology* **2**, 231–236.
- GODDARD, L. B., ROTH, A. E., REISEN, W. K. & SCOTT, T. W. (2003). Vertical transmission of West Nile Virus by three California *Culex* (Diptera: Culicidae) species. *Journal of Medical Entomology* **40**, 743–746.
- HORSFALL, W. R., FOWLER, H. W. J., MORETTI, L. J. & LARSEN, J. R. (1973). *The bionomics and embryology of the inland floodwater mosquito, Aedes vexans*, vol. III, Urbana.
- HORSFALL, W. R., NOVAK, R. J. & JOHNSON, F. L. (1975). *Aedes vexans* as a flood plain mosquito. *mosquito Environ. Entomol.* **4**, 675–678.
- LINTHICUM, K. J., DAVIES, F. G., KAIRO, A. & BAILEY, C. L. (1985). Rift Valley fever virus (family Bunyaviridae, genus Phlebovirus). Isolations from Diptera collected during an inter-epizootic period in Kenya. *J Hyg (Lond)* **95**, 197–209.
- MILLER, B. R., GODSEY, M. S., CRABTREE, M. B., SAVAGE, H. M., AL-MAZRAO, Y., AL-JEFFRI, M. H., ABDOON, A. M. M., AL-SEGHAIR, S. M., SHAHRANI, A. M. & KSIAZEK, T. G. (2002). Isolation and genetic characterization of Rift Valley fever from *Aedes vexans arabiensis*, Kingdom of Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis* **8**, 1492–1494.
- MILLER, B. R., NASCI, R. S., GODSEY, M. S., SAVAGE, H. M., LUTWAMA, J. J., LANCIOTTI, R. S. & PETERS, C. J. (2000). First field evidence for natural vertical transmission of West

- Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley Province, Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **62**, 240–246.
- MONDET, B., DIAÏTE, A., FALL, A. G. & CHEVALIER, V. (2005a). Relations entre la pluviométrie et le risque de transmission virale par les moustiques : Cas du virus de la Rift Valley Fever (RVF) dans le Ferlo (Sénégal). *Environnement risque et Santé* **4**, 125-129.
- MONDET, B., DIAÏTE, A., NDIONE, J.-A., FALL, A. G., CHEVALIER, V., LANCELOT, R., NDIAYE, M. & PONÇON, N. (2005b). Rainfall patterns and population dynamics of *Aedes* (*Aedimorphus*) *vexans arabiensis* Patton, 1905 (Diptera Culicidae), a potential vector of Rift Valley Fever in Senegal. *Journal of Vector Ecology* **30**, 102-106.
- O'MALLEY, C. M. (1990a). *Aedes vexans* (Meigen) : An old foe. *Proc. N. J. Mosquito Control Assoc*, 90-95.
- O'MALLEY, C. M. (1990b). *Aedes vexans* (Meigen) an old foe. In *Proceedings of seventy-seventh annual meeting*, vol. 77, pp. 90-95. New Jersey Mosquito Control Association.
- STRICKMAN, D. (1980). Stimuli affecting selection of oviposition site by *Aedes vexans* (Diptera Culicidae): moisture. *Mosquito News* **40**, 236-245.
- TURELL, M. J., O'GUINN, M. L., DOHM, D. J. & JONES, J. W. (2001). Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *Journal of Medical Entomology* **38**, 130-134.

CONCLUSION GENERALE

La fièvre West Nile est une maladie virale endémique au Sénégal, surtout dans la région du fleuve Sénégal et dans le Ferlo. Cette maladie zoonotique dite émergente ou réémergente constitue une préoccupation majeure pour les pays du Nord et un vaste thème de recherche dans les pays du Sud car beaucoup d'aspects liés à la maladie restent inexplorés.

Sa transmission d'un hôte infecté à un hôte sain se fait par le biais de vecteurs qui sont généralement des moustiques où par contact direct avec des substances infectieuses. Sa diffusion de régions infectées vers des régions indemnes est fortement liée aux mouvements d'animaux à travers les flux migratoires d'oiseaux, les échanges commerciaux,... Bien que beaucoup de questions restent sans réponse dans les cycles de transmission de la maladie, les processus d'émergence, très peu connus, sont largement tributaires des conditions environnementales locales.

La région du Ferlo et le Delta du fleuve Sénégal sont deux régions aux faciès écologiques différents. Le Ferlo étant constitué par de vastes dépressions, vallées fossiles inondables en saison des pluies et formant des mares temporaires qui disparaissent progressivement avec l'installation de la saison sèche. Tandis que le Delta du fleuve est constitué de vastes étendues aménagées pour la riziculture irriguée dont la principale source en eau est le fleuve Sénégal. Dans tous les cas, l'exploitation de ces régions par les populations humaine et animale est liée à l'eau qui, malheureusement, permet aussi le développement d'organismes comme les moustiques intervenant dans la transmission de maladies humaines et animales. C'est pour mieux connaître les aspects écologiques du virus West Nile dans ces deux régions du Sénégal que cette thèse a été initiée.

Les captures de moustiques effectuées dans le Ferlo et le Delta du fleuve Sénégal, ont permis de mettre en évidence le rôle de certains moustiques dans la transmission de cette maladie. *Culex neavei* a été identifié comme vecteur potentiel de la West Nile dans la région du Delta du fleuve Sénégal (Fall *et al.*, 2011) alors qu'*Aedes vexans arabiensis* est identifié comme probable vecteur pont de cette maladie dans le Ferlo (Fall *et al.*, 2012). Les analyses virologiques sur les moustiques capturés dans la région du Delta du fleuve Sénégal sont toujours en cours à l'Institut Pasteur de Dakar. Cependant, des études antérieures ont mis en évidence l'infection naturelle de ces vecteurs par le virus West Nile à plusieurs reprises (Camicas *et al.*, 1990; Gordon *et al.*, 1992; Traore-Lamizana *et al.*, 1994; Digoutte, 1995; Fontenille *et al.*, 1998; Traore-Lamizana *et al.*, 2001) corroborant ainsi nos hypothèses. Le virus de la FVR fut également isolé au Sénégal chez *Aedes vexans arabiensis* (Fontenille *et*

al., 1998). Nous n'avons pas non plus évalué la compétence vectorielle de ces vecteurs potentiels pour la West Nile.

Dans l'écosystème aride du Ferlo, deux voies sont privilégiées dans l'introduction du virus West Nile : par les moustiques ou par les oiseaux. Parmi les moustiques, ceux du genre *Culex* notamment *Cx poicilipes* et *Cx neavei* sont les principaux vecteurs potentiels à Barkedji (Diallo *et al.*, 2010). Hors, ces derniers disparaissent du milieu avec le tarissement des mares temporaires pour ne réapparaître qu'à la saison des pluies suivante. Mais trouvent des conditions de survie dans le Delta ou la vallée du fleuve Sénégal où ils sont présents toute l'année et peuvent à partir de ces régions recoloniser les mares de proche en proche une fois que les conditions redeviennent favorables dans le Ferlo. Ils pourront ainsi introduire le virus dans la région s'ils sont infectés. Certaines femelles de *Culex* peuvent aussi hiverner avec le virus West Nile en périodes difficiles pour reprendre leur activité en période favorable mais très peu de femelles seraient concernées par ce phénomène qui participe très peu au maintien du virus dans la nature (Nasci *et al.*, 2001; Andreadis *et al.*, 2010) mais pourrait intervenir dans l'initiation de l'infection des oiseaux dans le Ferlo. Cependant, la voie d'introduction par les oiseaux est plus plausible. En effet, certains oiseaux passent la saison défavorable dans le Delta et la vallée du fleuve Sénégal pour ne revenir qu'en hivernage (Morel, 1968; Morel & Morel, 1978). Ces régions, à forts flux migratoires, sont des lieux de brassage d'oiseaux de différents horizons avec des statuts pathologiques et immunitaires différents combinée à la présence de vecteurs, constituent des sites de contaminations possibles des oiseaux du Ferlo au virus West Nile qui pourraient retourner infectés au Ferlo. Les distances entre le Ferlo et ces régions n'étant pas très importantes, elles peuvent être parcourues rapidement par des oiseaux virémiques.

Le maintien du virus West Nile dans le Ferlo en saison sèche soulève aussi plusieurs hypothèses dont trois nous semblent les plus importantes : via les œufs d'*Aedes vexans arabiensis*, via des *Culex* hivernants ou par des réservoirs sauvages inconnus. En effet les œufs d'*Ae vexans arabiensis* sont connus pour résister à la dessiccation et peuvent traverser la saison défavorable pour éclore et continuer leur cycle de développement dès leur remise en eau comme nous l'avons prouvé dans à travers nos recherches. Ainsi les pics d'*Ae vexans arabiensis* apparaissent dans le Ferlo dès le début de l'hivernage avec l'éclosion simultanée des stocks d'œufs de l'année précédente (Mondet *et al.*, 2005a; Mondet *et al.*, 2005b). Si la transmission verticale du virus West Nile existe chez *Ae vexans arabiensis* comme il a été démontré chez *Ae aegypti* et *Ae albopictus* (Baqar *et al.*, 1993), les œufs pourraient constituer

une voie de maintien de ce virus dans le Ferlo. Il en est de même des *Culex* hivernants qui peuvent passer la saison sèche dans des abris et qui ne sont pas détectables par les méthodes entomologiques classiques car ne piquent pas. Comme ce fut le cas aux USA (Nasci *et al.*, 2001). Des animaux sauvages, porteurs chroniques du virus West Nile, inféodés à l'habitat des mares pourraient également participer au maintien du virus. L'infection expérimentale de la grenouille des lacs (*Rana ridibunda*) avec une souche russe du virus West Nile a entraîné des niveaux élevés de virémie pouvant même infecter un moustique (Kostiukov *et al.*, 1985) poussant les auteurs à le considérer comme un réservoir de ce virus. A Barkédji de grandes densités de grenouilles sont notées au niveau des mares qui entrent en hibernation jusqu'au prochain hivernage dès que les mares tarissent. S'il est prouvé que les grenouilles peuvent être des réservoirs du virus West Nile, elles pourraient être des acteurs de l'endémisation du virus dans la région. A l'heure actuelle, le rôle des reptiles et des amphibiens dans l'écologie et l'épidémiologie du virus West Nile n'est pas connue. Il en est de même des rongeurs dont certains (les lapins (*Sylvilagus floridanus*), les tamias (*Tamias striatus*), les écureuils (*Sciurus niger*)) sont des réservoirs avérés aux USA (Platt *et al.*, 2008). Ces réservoirs sauvages inconnus devraient donc faire l'objet d'investigations approfondies afin de mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie dans cette région.

Dans la région du Delta, deux moustiques (*Culex tritaeniorhynchus* et *Culex poicilipes*) pourraient être impliqués dans la transmission du virus West Nile. *Culex tritaeniorhynchus* est une espèce beaucoup plus mammophile qu'ornithophile au Sénégal (Ba *et al.*, 2006; Fall *et al.*, 2011). Le virus de la West Nile (Camicas *et al.*, 1990) a été naturellement isolé chez ce vecteur au Sénégal et sa compétence vectorielle établie (Jiang *et al.*, 2010). Les densités de cette espèce sont corrélées avec la température et l'humidité relative, son activité est faible à des températures inférieures à 20°C et/ou à une humidité relative inférieure à 55% (Fall *et al.*, 2011). Dans un suivi de la dynamique des populations de moustiques réalisé de septembre 2005 à avril 2007 avec des CDC light traps, nous avons aussi montré que les fortes densités de *Culex tritaeniorhynchus* surviennent en septembre et octobre, coïncidant avec l'arrivée des oiseaux migrateurs dans la région. Ainsi, du fait de sa grande attraction pour les chevaux, elle pourrait participer à la transmission du virus West Nile à ces derniers. *Culex poicilipes* est un moustique opportuniste (Ba *et al.*, 2006; Fall *et al.*, 2011) et a été trouvé porteur du virus de la fièvre de la vallée du Rift au Sénégal (Diallo *et al.*, 2000) et du virus West Nile (Traore-Lamizana *et al.*, 1994). Cette espèce, considérée comme un bon voilier dans les conditions du Ferlo, peut parcourir des distances assez importantes (Ba *et al.*, 2005) et peut donc participer à

l'introduction (de proche en proche à partir du Delta) et à la dissémination du virus West Nile dans cet écosystème où son pic d'abondance est enregistré dans la seconde moitié de la saison des pluies (Mondet *et al.*, 2005a; Mondet *et al.*, 2005b). Cependant, sa faible abondance en période de grande circulation de ce virus (octobre-décembre) dans le Delta, fait qu'il ne joue certainement pas un grand rôle dans la transmission épidémique de la West Nile. Par contre, elle pourrait intervenir dans le cycle enzootique du virus en prenant le relais de *Cx neavei*, qui devient très rare à partir du mois de mars correspondant au pic de *Cx poicilipes*. En effet, les plus fortes densités de *Cx poicilipes* sont enregistrées en mars/avril, soit après le départ des oiseaux migrateurs.

La déviation du comportement trophique notée chez *Culex neavei* des mammifères (cheval) vers les oiseaux suite à l'arrivée massive d'oiseaux migrateurs dans la région du Delta met en évidence la capacité d'adaptation de cette espèce qui a su porter ses choix trophiques vers des hôtes autres que ses hôtes de prédilection lorsque ces derniers étaient peu abondants dans le milieu. Probablement, cette déviation comportementale favoriserait, par la même occasion, la transmission du virus West Nile entre oiseaux notamment entre les migrateurs et les résidents. D'autres investigations demeurent cependant nécessaires pour confirmer cette modification saisonnière du comportement alimentaire de *Cx neavei* notamment en étendant les enquêtes entomologiques aux mois précédant l'arrivée des migrateurs (juillet et août) jusqu'à après leur départ au mois de mai.

Les poulets sentinelles mis en place à Ross Béthio nous ont permis de détecter la circulation du virus West Nile, avec la séroconversion de certains poulets. Le poulailler le plus proche du *Grand Lampsar* (d=88m) a compté à J30 trois fois plus de séroconversions que celui situé à 837m. Ces séroconversions étaient associées à de fortes densités apparentes de *Cx neavei*, principal vecteur incriminé dans la transmission. Ce dernier résultat est doublement important car il montre le caractère endémique de ce virus dans la région du Delta du fleuve Sénégal et encourage l'utilisation d'un tel système de surveillance pour détecter précocement l'amplification du WNV. Les zones à risque ont été également délimitées. En effet, nous n'avons eu aucune séroconversion à 1300m suggérant ainsi que pour être efficace le système de surveillance mis en place doit être proche des gîtes de reproduction des moustiques. La période à risque élevée de transmission a été également délimitée. Elle fait suite en fin de saison des pluies à l'arrivée des oiseaux migrateurs, principaux véhicules du virus à travers les grands flux migratoires. Il faudrait aussi envisager d'élargir prochainement ces enquêtes entomologiques et sérologiques en commençant avant l'arrivée des grandes vagues de

migrateurs, soit dès le début des pluies, et les poursuivre jusqu'au départ des dernières vagues de migrateurs en mars/avril. Cela permettrait de vérifier la saisonnalité de la modification du comportement trophique observé chez *Cx neavei* (qui redeviendrait alors essentiellement mammophile) et de détecter éventuellement une circulation à bas bruit du virus West Nile.

Aujourd'hui, beaucoup de facteurs associés à l'émergence de la West Nile (fortes pluies, population abondante de vecteurs, irrigation, mares temporaires, flux d'oiseaux migrateurs) sont connus mais les circonstances d'endémisation de la maladie dans les pays de l'Afrique au Sud du Sahara demeurent à élucider. Au Sénégal, de nombreuses questions restent sans réponse et doivent être pris en charge dans les futurs programmes de recherches pour mieux connaître les acteurs impliqués (oiseaux, mammifères domestiques et sauvages et vecteurs), mieux étudier la compétence et la capacité des candidats vecteurs, et mieux comprendre les conditions de maintien du virus dans la nature.

BIBLIOGRAPHIE :

Références bibliographiques

- ABBASSY, M. M., OSMAN, M. & MARZOUK, A. S. (1993). West Nile virus (Flaviviridae: Flavivirus) in experimentally infected Argas ticks (Acari: Argasidae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **48**, 726-737.
- ANDERSON, J. F., MAIN, A. J., ANDREADIS, T. G., WIKEL, S. K. & VOSSBRINCK, C. R. (2003). Transstadial transfer of West Nile virus by three species of Ixodid ticks (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **40**, 528-533.
- ANDERSON, J. F. & RAHAL, J. J. (2002). Efficacy of interferon alpha-2b and ribavirin against West Nile virus in vitro. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 107-108.
- ANDREADIS, T. G., ANDERSON, J. F. & VOSSBRINCK, C. R. (2001). Mosquito surveillance for West Nile virus in Connecticut, 2000: isolation from *Culex pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius*, and *Culiseta melanura*. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 670-674.
- ANDREADIS, T. G., ANDERSON, J. F., VOSSBRINCK, C. R. & MAIN, A. J. (2004). Epidemiology of West Nile virus in Connecticut: a five-year analysis of mosquito data 1999-2003. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **4**, 360-378.
- ANDREADIS, T. G., ARMSTRONG, P. M. & BAJWA, W. I. (2010). Studies on hibernating populations of *Culex pipiens* from a West Nile virus endemic focus in New York City: parity rates and isolation of West Nile virus. *Journal of the American Mosquito Control Association* **26**, 257-264.
- AUTORINO, G. L., BATTISTI, A., DEUBEL, V., FERRARI, G., FORLETTA, R., GIOVANNINI, A., LELLI, R., MURRI, S. & SCICLUNA, M. T. (2002). West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 1372-1378.
- BA, Y., DIALLO, D., DIA, I. & DIALLO, M. (2006). Comportement trophique des vecteurs du virus de la fièvre de la vallée du Rift au Sénégal : implications dans l'épidémiologie de la maladie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **99**, 283-289.
- BA, Y., DIALLO, D., KEBE, C. M., DIA, I. & DIALLO, M. (2005). Aspects of bioecology of two Rift Valley Fever Virus vectors in Senegal (West Africa): *Aedes vexans* and *Culex poicilipes* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **42**, 739-750.
- BALENGHIEN, T., FOUQUE, F., SABATIER, P. & BICOUT, D. J. (2006). Horse-, bird-, and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *Journal of Medical Entomology* **43**, 936-946.
- BAQAR, S., HAYES, C. G., MURPHY, J. R. & WATTS, D. M. (1993). Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **48**, 757-762.
- BARRERA, R., HUNSPERGER, E., MUÑOZ-JORDÁN, J. L., AMADOR, M., DIAZ, A., SMITH, J., K., B., BELTRAN, M., VERGNE, E., VERDUIN, M., LAMBERT, A. & SUN, W. (2008). First isolation of West Nile virus in the Caribbean. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **78**, 666-668.

- BEN HASSINE, T., HAMMAMI, S., ELGHOUL, H. & GHRAM, A. (2011). Détection de la circulation de virus West Nile chez les Équidés dans le nord-ouest de la Tunisie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **104**, 266-271.
- BERNKOPF, H., LEVINE, S. & NERSON, R. (1953). Isolation of West Nile virus in Israel. *Journal of Infectious Diseases* **93**, 207-218.
- BIN, H., GROSSMAN, Z., POKAMUNSKI, S., MALKINSON, M., WEISS, L., DUVDEVANI, P., BANET, C., WEISMAN, Y., ANNIS, E., GANDAKU, D., YAHALOM, V., HINDYIEH, M., SHULMAN, L. & MENDELSON, E. (2001). West Nile fever in Israel 1999-2000: from geese to humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* **951**, 127-142.
- BLITVICH, B. J., BOWEN, R. A., MARLENEE, N. L., HALL, R. A., BUNNING, M. L. & BEATY, B. J. (2003a). Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for detection of West Nile virus antibodies in domestic mammals. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 2676-2679.
- BLITVICH, B. J., FERNANDEZ-SALAS, I., CONTRERAS-CORDERO, J. F., MARLENEE, N. L., GONZALEZ-ROJAS, J. I., KOMAR, N., GUBLER, D. J., CALISHER, C. H. & BEATY, B. J. (2003b). Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Coahuila State, Mexico. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 853-856.
- BLITVICH, B. J., MARLENEE, N. L., HALL, R. A., CALISHER, C. H., BOWEN, R. A., ROEHRIG, J. T., KOMAR, N., LANGEVIN, S. A. & BEATY, B. J. (2003c). Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies to West Nile virus in multiple avian species. *Journal of Clinical Microbiology* **41**, 1041-1047.
- BOFILL, D., DOMINGO, C., CARDEÑOSA, N., ZARAGOZA, J., DE ORY, F., MINGUELL, S., SANCHEZ-SECO, M. P., DOMINGEZ, A. & TENORIO, A. (2006). Human West Nile Virus Infection, Catalonia, Spain. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 1163-1164.
- BOSCH, I., HERRERA, F., NAVARRO, J. C., LENTINO, M., DUPUIS, A., MAFFEI, J., JONES, M., FERNÁNDEZ, E., PÉREZ, N., PÉREZ-EMÁN, J., GUIMARÃES, A. É., BARRERA, R., VALERO, N., RUIZ, J., VELÁSQUEZ, G., MARTINEZ, J., COMACH, G., KOMAR, N., SPIELMAN, A. & KRAMER, L. (2007). West Nile Virus, Venezuela. *Emerging Infectious Diseases* **13**, 651-653.
- BRINTON, M. A. (2001). West Nile virus. In *Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine*, vol. 5. ed. T. CREIGHTON, E., pp. 3398-3400. John Wiley & Sons, New York.
- BUCKLEY, A., DAWSON, A. & GOULD, E. A. (2006). Detection of seroconversion to West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus in UK sentinel chickens. *Virology Journal* **4**, 71.
- BUCKLEY, A., DAWSON, A., MOSS, S. R., HINSLEY, S. A., BELLAMY, P. E. & GOULD, E. A. (2003). Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK. *Journal of General Virology* **84**, 2807-2817.
- BUNNING, M. L., BOWEN, R. A., CROPP, C. B., SULLIVAN, K. G., DAVIS, B. S., KOMAR, N., GODSEY, M. S., BAKER, D., HETTLER, D. L., HOLMES, D. A., BIGGERSTAFF, B. J. &

- MITCHELL, C. J. (2002). Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 380–386.
- CABRE, O., GRANDADAM, M., MARIE, J., GRAVIER, P., PRANGE, A., SANTINELLI, Y., ROUS, V., BOURRY, O., DURAND, J., TOLOU, H. & DAVOUST, B. (2006a). West Nile Virus in horses, sub-Saharan Africa. *Emerg Infect Dis* **12**, 1958 - 1960.
- CABRE, O., GRANDADAM, M., MARIE, J. L., GRAVIER, P., PRANGE, A., SANTINELLI, Y., ROUS, V., BOURRY, O., DURAND, J. P., TOLOU, H. & DAVOUST, B. (2006b). West Nile Virus in horses, sub-Saharan Africa. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 1958-1960.
- CALISHER, C. H., KARABATSOS, N., DALRYMPLE, J. M., SHOPE, R. E., PORTERFIELD, J. S., WESTAWAY, E. G. & BRANDT, W. E. (1989). Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *Journal of General Virology* **70**, 37-43.
- CAMICAS, J. L., ZELLER, H. G., FERRARA, L., CORNET, J. P., TRAORE-LAMIZANA, M. & ADAM F. (1990). Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar. Année 1989, pp. 139-159. Institut Pasteur de Dakar, Dakar.
- CANTILE, C., DI GUARDO, G., ELEN, C. & ARISPICI, M. (2000). Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Veterinary Journal* **32**, 31-35.
- CARNEY, R. M., HUSTED, S., JEAN, S., GLASER, C. & KRAMER, V. (2008). Efficacy of aerial spraying of mosquito adulticide in reducing incidence of West Nile virus, California, 2005. *Emerging Infectious Diseases* **14**, 747-754.
- CERNESCU, C., NEDELICU, N. I., TARDEI, G., RUTA, S. & TSAI, T. F. (2000). Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998. *Journal of Infectious Diseases* **181**, 710-712.
- CHARREL, R. N., BRAULT, A. C., GALLIAN, P., LEMASSON, J. J., MURGUE, B., MURRI, S., PASTORINO, B., ZELLER, H., DE CHESSE, R., DE MICCO, P. & DE LAMBALLERIE, X. (2003). Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. *Virology* **315**, 381-388.
- CHASKOPOULOU, A., DOVAS, C. I., CHAINTOUTIS, S. C., BOUZALAS, I., ARA, G. & PAPANASTASSOPOULOU, M. (2011). Evidence of enzootic circulation of West Nile virus (Nea Santa-Greece-2010, lineage 2), Greece, May to July 2011. *Eurosurveillance* **16**, 19933.
- CHEVALIER, V., DUPRESSOIR, A., TRAN, A., DIOP, O. M., GOTTLAND, C., DIALLO, M., ETTER, E., NDIAYE, M., GROSBOIS, V., DIA, M., GAIDET, N., SALL, A. A., SOTI, V. & NIANG, M. (2010). Environmental risk factors of West Nile virus infection of horses in the Senegal River basin. *Epidemiology and Infection* **23**, 1-9.

- CHEVALIER, V., LANCELOT, R., DIAÏTE, A., MONDET, B. & LAMBALLERIE, X. (2008a). Use of sentinel chickens to study the transmission dynamics of West Nile virus in a Sahelian ecosystem. *Epidemiol Inf* **136**, 525 - 528.
- CHEVALIER, V., LANCELOT, R., DIAÏTE, A., MONDET, B. & LAMBALLERIE, X. (2008b). Use of sentinel chickens to study the transmission dynamics of West Nile virus in a Sahelian ecosystem. *Epidemiology and Infection* **136**, 525-528.
- CHEVALIER, V., LANCELOT, R., DIAÏTÉ, A., MONDET, B., SALL, B. & DE LAMBALLERIE, X. (2006). Serological assessment of West Nile fever virus activity in the pastoral system of Ferlo, Senegal. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1081**, 216-225.
- CHEVALIER, V., REYNAUD, P., LEFRANÇOIS, T., DURAND, B., BAILLON, F., BALANÇA, G., GAIDET, N., MONDET, B. & LANCELOT, R. (2009). Predicting West Nile Virus Seroprevalence in Wild Birds in Senegal. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **9**, 589-596.
- CHOWERS, M. Y., LANG, R., NASSAR, F., BEN-DAVID, D., GILADI, M., RUBINSHTAIN, E., ITZHAKI, A., MISHAL, J., SIEGMAN-IGRA, Y., KITZES, R., PICK, N., LANDAU, Z., WOLF, D., BIN, H., MENDELSON, E., PITLIK, S. D. & WEINBERGER, M. (2001). Clinical characteristics of the West Nile fever outbreak, Israel, 2000. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 675-678.
- CRDI. (2005). Rapport d'exploitation préliminaire des données sur la zone d'étude (Département de Dagana), pp. 51. CRDI.
- CRUZ, L., CARDENAS, V. M., ABARCA, M., RODRIGUEZ, T., REYNA, R. F., SERPAS, M. V., FONTAINE, R. E., BEASLEY, D. W., DA ROSA, A. P., WEAVER, S. C., TESH, R. B., POWERS, A. M. & SUAREZ-RANGEL, G. (2005). Short report: serological evidence of West Nile virus activity in El Salvador. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **72**, 612-615.
- CSE. (2002). Mise en place d'un système d'alerte rapide et de moyens de communication en vue de la prévention et de la suppression des feux de brousse dans la région de Saint-Louis, pp. 73. Centre de suivi écologique.
- DANIS, K., PAPA, A., THEOCHAROPOULOS, G., DOUGAS, G., ATHANASIOU, M., DETSIS, M., BAKA, A., LYTRAS, T., MELLOU, K., BONOVAS, S. & PANAGIOTOPOULOS, T. (2011). Outbreak of West Nile Virus Infection in Greece, 2010. *Emerging Infectious Diseases* **17**, 1868-1872.
- DEPOORTERE, E., KAVLE, J., KEUS, K., ZELLER, H., MURRI, S. & LEGROS, D. (2004). Outbreak of West Nile virus causing severe neurological involvement in children, Nuba Mountains, Sudan, 2002. *Tropical Medicine and International Health* **9**, 730-736.
- DIALLO, D., BA, Y., DIA, I., KONATÉ, L. & DIALLO, M. (2008). Utilisation de boeufs traités aux insecticides dans la lutte contre les vecteurs des virus de la fièvre de la vallée du Rift et de la fièvre West Nile au Sénégal. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **101**, 410-417.

- DIALLO, D., BA, Y., DIA, I., SALL, A. A. & DIALLO, M. (2010). Evaluation of the efficiency of bird-baited traps for sampling potential West Nile fever mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Senegal. *Parasite* **17**, 143-147.
- DIALLO, M., LOCHOUARN, L., BA, K., SALL, A. A., MONDO, M., GIRAULT, L. & MATHIOT, C. (2000). First isolation of the Rift Valley fever virus from *Culex poicilipes* (Diptera: Culicidae) in nature. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **62**, 702-704.
- DIALLO, M., NABETH, P., BA, K., SALL, A. A., BA, Y., MONDO, M., GIRAULT, L., ABDALAH, M. O. & MATHIOT, C. (2005). Mosquito vectors of the 1998-1999 outbreak of Rift Valley Fever and other arboviruses (Bagaza, Sanar, Wesselsbron and West Nile) in Mauritania and Senegal. *Medical and Veterinary Entomology* **19**, 119-126.
- DIGOUTTE, J. P. (1995). Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar, pp. Rapport annuel 1994. Institut Pasteur, Dakar.
- DOHM, D. J., SARDELIS, M. R. & TURELL, M. J. (2002). Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **39**, 640-644.
- DUPUIS, A. P., MARRA, P. P. & KRAMER, L. D. (2003). Serological evidence for West Nile virus transmission in Jamaica, West Indies. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 860-863.
- DUPUIS, A. P. N., MARRA, P. P., REITSMA, R., JONES, M. J., LOUIE, K. L. & KRAMER, L. D. (2005). Serologic evidence for West Nile virus transmission in Puerto Rico and Cuba. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **73**, 474-476.
- DURAND, B., BALANÇA, G., BALDET, T. & CHEVALIER, V. (2010). A metapopulation model to simulate West Nile virus circulation in Western Africa, Southern Europe and the Mediterranean basin. *Veterinary Research* **41**, 32.
- DURAND, B., DAUPHIN, G., LABIE, J., ZELLER, H. & ZIENTARA, S. (2005). Résultats d'une enquête sérologique sur l'infection à virus West Nile chez les équidés dans le Var, en 2003. *Environnement, Risques et Santé* **4**, 114-118.
- ECDC. (2011). Review of the epidemiological situation of West Nile virus infection in the European Union. *Rapid Risk Assessment* **September, 2011**.
- EL GARCH, H., MINKE, J. M., REHDER, J., RICHARD, S., EDLUND TOULEMONDE, C., DINIC, S., ANDREONI, C., AUDONNET, J. C., NORDGREN, R. & JUILLARD, V. (2008). A West Nile virus (WNV) recombinant canarypox virus vaccine elicits WNV-specific neutralizing antibodies and cell-mediated immune responses in the horse. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **15**, 230-239.
- ELNAIEM, D. E., KELLEY, K., WRIGHT, S., LAFFEY, R., YOSHIMURA, G., REED, M., GOODMAN, G., THIEMANN, T., REIMER, L., REISEN, W. K. & BROWN, D. (2008). Impact of aerial spraying of pyrethrin insecticide on *Culex pipiens* and *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) abundance and West Nile virus infection rates in an urban/suburban area of Sacramento County, California. *Journal of Medical Entomology* **45**, 751-757.

- ERDELYI, K., URSU, K., E., F., SZEREDI, L., RATZ, F., SKARE, J. & BAKONYI, T. (2007). Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **7**, 181-188.
- ESTEVEZ, A., ALMEIDA, A. P. G., GALÃO, R. P., PARREIRA, R., PIEDADE, J., RODRIGUES, J. C., SOUSA, C. A. & NOVO, M. T. (2005). West Nile Virus in Southern Portugal, 2004. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **5**, 410-413.
- FALL, A. G., DIAÏTÉ, A., ETTER, E., BOUYER, J., NDIAYE, T. D. & KONATÉ, L. (2012). The mosquito *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis* as a probable vector bridging West Nile virus between birds and horses in Barkedji (Ferlo, Senegal). *Medical and Veterinary Entomology* **26**, 106-111.
- FALL, A. G., DIAÏTÉ, A., LANCELOT, R., TRAN, A., SOTI, V., ETTER, E., KONATÉ, L., FAYE, O. & BOUYER, J. (2011). Feeding behaviour of potential vectors of West Nile virus in Senegal. *Parasites and Vectors* **4**, 99.
- FARFÁN-ALE, J. A., BLITVICH, B. J., LOROÑO-PINO, M. A., MARLENEE, N. L., ROSADO-PAREDES, E. P., GARCÍA-REJÓN, J. E., FLORES-FLORES, L. F., CHULIM-PERERA, L., LÓPEZ-URIBE, M., PÉREZ-MENDOZA, G., SÁNCHEZ-HERRERA, I., SANTAMARÍA, W., MOO-HUCHIM, J., GUBLER, D. J., CROPP, B. C., CALISHER, C. H. & BEATY, B. J. (2004). Longitudinal studies of West Nile virus infection in avians, Yucatán State, México. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **4**, 3-14.
- FIGUEROLA, J., BAOUAB, R. E., SORIGUER, R., FASSI-FIHRI, O., LLORENTE, F. & JIMENEZ-CLAVERO, M. A. (2009). West Nile Virus Antibodies in Wild Birds, Morocco, 2008. *Emerging Infectious Diseases* **15**, 1651-1653.
- FONTENILLE, D., DIALLO, M., MONDO, M., NDIAYE, M. & THONNON, J. (1997). First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti*, its epidemic vector. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **91**, 533-535.
- FONTENILLE, D., MATHIOT, C. & COULANGES, P. (1985). Les cycles arbovirus - vecteurs - vertébrés dans les forêts malgaches. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar* **52**, 171-180.
- FONTENILLE, D., TRAORE-LAMIZANA, M., DIALLO, M., THONNON, J., DIGOUTTE, J. P. & ZELLER, H. G. (1998). New vectors of Rift Valley fever in West Africa. *Emerging Infectious Diseases* **4**, 289-293.
- GARGAN, T. P. N., JUPP, P. G. & NOVAK, R. J. (1988). Panveld oviposition sites of floodwater *Aedes* mosquitoes and attempts to detect transovarial transmission of Rift Valley fever virus in South Africa. *Medical and Veterinary Entomology* **2**, 231-236.
- GARMENDIA, A. E., VAN KRUININGEN, H. J. & FRENCH, R. A. (2001). The West Nile virus: its recent emergence in North America. *Microbes and Infection* **3**, 223-229.

- GARMENDIA, A. E., VAN KRUININGEN, H. J., FRENCH, R. A., ANDERSON, J. F., ANDREADIS, T. G., KUMAR, A. & WEST, A. B. (2000). Recovery and identification of West Nile virus from a hawk in winter. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 3110-3111.
- GEORGE, S., GOURIE-DEVI, M., RAO, J. A., PRASAD, S. R. & PAVRI, K. M. (1984). Isolation of West Nile virus from the brains of children who had died of encephalitis. *Bulletin of the World Health Organization* **62**, 879-882.
- GINGRICH, J. B., O'CONNOR, L. L., MEREDITH, W. H., PESEK, J. D. & SHRIVER, W. G. (2010). Epidemiology of West Nile virus: a silent epiornitic in Northern Delaware in 2007 without associated human cases. *Journal of the American Mosquito Control Association* **26**, 274-286.
- GODDARD, L. B., ROTH, A. E., REISEN, W. K. & SCOTT, T. W. (2002). Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 1385-1391.
- GODDARD, L. B., ROTH, A. E., REISEN, W. K. & SCOTT, T. W. (2003). Vertical transmission of West Nile Virus by three California Culex (Diptera: Culicidae) species. *Journal of Medical Entomology* **40**, 743-746.
- GORDON, S. W., TAMMARIELLO, R. F., LINTHICUM, K. J., DOHM, D. J., DIGOUTTE, J. P. & CALVO-WILSON, M. A. (1992). Arbovirus isolations from mosquitoes collected during 1988 in the Senegal River basin. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **47**, 742-748.
- GRANWEHR, B. P., LILLIBRIDGE, K. M., HIGGS, S., MASON, P. W., ARONSON, J. F., CAMPBELL, G. A. & BARRETT, A. D. T. (2004). West Nile Virus: Where are we now? *Lancet Infectious Diseases* **4**, 547-556.
- GUY, B., GUIRAKHOO, F., BARBAN, V., HIGGS, S., MONATH, T. P. & LANG, J. (2010). Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. *Vaccine* **28**, 632-649.
- HAYES, E. B., KOMAR, N., NASCI, R. S., MONTGOMERY, S. P., O'LEARY, D. R. & G.L., C. (2005a). Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease. *Emerging Infectious Diseases* **11**, 1167-1173.
- HAYES, E. B., SEJVAR, J. J., ZAKI, S. R., LANCIOTTI, R. S., BODE, A. V. & CAMPBELL, G. L. (2005b). Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerging Infectious Diseases* **11**, 1174-1179.
- HEINZ, F. X., COLLETT, M. S., PURCELL, R. H., GOULD, E. A., HOWARD, C. R., HOUGHTON, M., MOORMAN, R. J. M., RICE, C. M. & THIEL, H. J. (2000). Family Flaviviridae. In *Virus Taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. 7th Report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses*. ed. VAN REGENMORTEL, M. H. V., FAUQUET, C. M., BISHOP, D. H. L., CARSTENS, E. B., ESTES, M. K., LEMON, S. M., MANILOFF, J., MAYO, M. A., MCGEOCH, D. J., PRINGLE, C. R., WICKNER, R. B., pp. 859-878. Academic press, San Diego.

- HOLLANDER, M. & WOLFE, D. A. (1973). *Non parametric statistical inference*. John Wiley & Sons, New York.
- HORSFALL, W. R., FOWLER, H. W. J., MORETTI, L. J. & LARSEN, J. R. (1973). *The bionomics and embryology of the inland floodwater mosquito, Aedes vexans*, vol. III, Urbana.
- HORSFALL, W. R., NOVAK, R. J. & JOHNSON, F. L. (1975). Aedes vexans as a flood plain mosquito. *mosquito Environ. Entomol.* **4**, 675-678.
- HUBALEK, Z. & HALOUZKA, J. (1999). West Nile virus - a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **5**, 643-650.
- HUBALEK, Z., HALOUZKA, J. & JURICOVA, Z. (1999). West Nile fever in Czechland. *Emerging Infectious Diseases* **5**, 594-595.
- HUGGINS, J. W. (1989). Prospects for treatment of viral hemorrhagic fevers with ribavirin, a broad-spectrum antiviral drug. *Reviews of Infectious Diseases* **11 Suppl 4**, 750-761.
- HUTCHESON, H. J., GORHAM, C. H., MACHAIN-WILLIAMS, C., LOROÑO-PINO, M. A., JAMES, A. M., MARLENEE, N. L., WINN, B., BEATY, B. J. & BLAIR, C. D. (2005). Experimental Transmission of West Nile Virus (Flaviviridae: Flavivirus) by Carios capensis Ticks from North America. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **5**, 293-295.
- JIANG, S. F., ZHANG, Y. M., GUO, X. X., DONG, Y. D., XING, D., XUE, R. D. & ZHAO, T. Y. (2010). Experimental studies on comparison of the potential vector competence of four species of Culex mosquitoes in China to transmit West Nile virus. *Journal of Medical Entomology* **47**, 788-790.
- KOMAR, N. (2001). West Nile virus surveillance using sentinel birds. *Annals of the New York Academy of Sciences* **951**, 58-73.
- KOMAR, N. (2003). West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Advances in virus research* **61**, 185-234.
- KOMAR, N., BESOFF, K., DIAZ, A., AMADOR, M., YOUNG, G., SEDA, R., PEREZ, T. & HUNSPERGER, E. (2012). Avian hosts of West Nile virus in Puerto Rico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **12**, 47-54.
- KOMAR, N. & CLARK, G. G. (2006). West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Revista Panamericana de Salud Pública* **19**, 112-117.
- KOMAR, N., LANGEVIN, S., HINTEN, S., NEMETH, N., EDWARDS, E., HETTLER, D., DAVIS, B., BOWEN, R. A. & BUNNING, M. L. (2003a). Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile Virus. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 311-322.
- KOMAR, O., ROBBINS, M. B., KLENK, K., BURKHALTER, K. L., GUBLER, D. J., BLITVICH, B. J., MARLENEE, N. L., GONZALVEZ, G., PENA, C., PETERSON, A. T. & KOMAR, N. (2003b). Evidence of West Nile virus transmission in resident birds in the Dominican Republic. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 1299-1302.

- KOPEL, E., AMITAI, Z., BIN, H., SHULMAN, L. M., MENDELSON, E. & SHEFFER, R. (2011). Surveillance of West Nile virus disease, Tel Aviv district, Israel, 2005 to 2010. *Eurosurveillance* **16**, pii=19894.
- KOSTIUKOV, M. A., GORDEEVA, Z. E., BULYCHEV, V. P., NEMOVA, N. V. & DANIAROV, O. A. (1985). [The lake frog (*Rana ridibunda*)--one of the food hosts of blood-sucking mosquitoes in Tadzhikistan--a reservoir of the West Nile fever virus]. *Meditssinskaia parazitologiya i parazitarnye bolezni*, 49-50.
- KWAN, J. L., KLUH, S., MADON, M. B., NGUYEN, D. V., BARKER, C. M. & REISEN, W. K. (2010). Sentinel Chicken Seroconversions Track Tangential Transmission of West Nile Virus to Humans in the Greater Los Angeles Area of California. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **83**, 1137-1145.
- LANCIOTTI, R. S., EBEL, G. D., DEUBEL, V., KERST, A. J., MURRI, S., MEYER, R., BOWEN, M., MCKINNEY, N., MORRILL, W. E., CRABTREE, M. B., KRAMER, L. D. & ROEHRIG, J. T. (2002). Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology* **298**, 96-105.
- LANCIOTTI, R. S., ROEHRIG, J. T., DEUBEL, V., SMITH, J., PARKER, M., STEELE, K., VOLPE, K. E., CRABTREE, M. B., SCHERRET, J. H., HALL, R. A., MACKENZIE, J. S., CROPP, C. B., PANIGRAHY, B., OSTLUND, E., SCHMITT, B., MALKINSON, M., BANET, C., WEISSMAN, J., KOMAR, N., SAVAGE, H. M., STONE, W., MCNAMARA, T. & GUBLER, D. J. (1999). Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* **286**.
- LANGEVIN, S. A., BUNNING, M., DAVIS, B. & KOMAR, N. (2001). Experimental infection of chickens as candidate sentinels for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 726-729.
- LAWRIE, C. H., UZCÁTEGUI, N. Y., GOULD, E. A. & NUTTALL, P. A. (2004). Ixodid and argasid tick species and west nile virus. *Emerging Infectious Diseases* **10**, 653-657.
- LE GUENNO, B., BOUGERMOUH, A., AZZAM, T. & BOUAKAZ, R. (1996). West Nile: a deadly virus? *Lancet* **348**, 1315.
- LEFRANCOIS, T., BLITVICH, B., PRADEL, J., MOLIA, S., VACHIER, N. & MARTINEZ, D. (2006). West Nile virus in Guadeloupe : introduction, spread, and decrease in circulation level : 2002-2005. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1081**, 206-215.
- LEFRANCOIS, T., BLITVICH, B., PRADEL, J., MOLIA, S., VACHIER, N., PALLAVICINI, P., MARLENEE, N., ZIENTARA, S., PETITCLERC, M. & MARTINEZ, D. (2005). West Nile virus surveillance, Guadeloupe, 2003-2004. *Emerging Infectious Diseases* **11**, 1100-1103.
- LESNOFF, M., LANCELOT, R. & MOULIN, C. H. (2007). Calcul des taux démographiques dans les cheptels de ruminants domestiques tropicaux : approche en temps discret. CIRAD, ILRI.

- LESNOFF, M., LANCELOT, R., MOULIN, C.-H., MESSAD, S., JUANES, X. & SAHUT, C. (2010). Calculation of demographic parameters in tropical livestock herds. A discrete time approach with LASER animal-based monitoring data. CIRAD.
- LICHTENSTEIGER, C. A., HEINZ-TAHENY, K., OSBORNE, T. S., NOVAK, R. J., LEWIS, B. A. & FIRTH, M. L. (2003). West Nile virus encephalitis and myocarditis in wolf and dog. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 1303-1306.
- LINTHICUM, K. J., DAVIES, F. G., KAIRO, A. & BAILEY, C. L. (1985). Rift Valley fever virus (family Bunyaviridae, genus Phlebovirus). Isolations from Diptera collected during an inter-epizootic period in Kenya. *J Hyg (Lond)* **95**, 197-209.
- LORONO-PINO, M. A., BLITVICH, B. J., FARFAN-ALE, J. A., PUERTO, F. I., BLANCO, J. M., MARLENEE, N. L., ROSADO-PAREDES, E. P., GARCÍA-REJON, J. E., GUBLER, D. J., CALISHER, C. H. & BEATY, B. J. (2003). Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Yucatan State, Mexico. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 857-859.
- LOTHROP, H. D., LOTHROP, B. B., GOMSI, D. E. & REISEN, W. K. (2008). Intensive early season adulticide applications decrease arbovirus transmission throughout the Coachella Valley, Riverside County, California. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **8**, 475-489.
- LUKACIK, G., ANAND, M., SHUSAS, E. J., HOWARD, J. J., OLIVER, J., CHEN, H., BACKENSON, P. B., KAUFFMAN, E. B., BERNARD, K. A., KRAMER, L. D. & WHITE, D. J. (2006). West Nile virus surveillance in mosquitoes in New York State, 2000-2004. *Journal of the American Mosquito Control Association* **22**, 264-271.
- MAGURANO, F., REMOLI, M. E., BAGGIERI, M., FORTUNA, C., MARCHI, A., FIORENTINI, C., BUCCI, P., BENEDETTI, E., CIUFOLINI, M. G., RIZZO, C., PIGA, S., SALCUNI, P., REZZA, G. & NICOLETTI, L. (2012). Circulation of West Nile virus lineage 1 and 2 during an outbreak in Italy. *Clinical Microbiology and Infection* **18**, 545-547.
- MAIRIE-DE-ROSS-BETHIO. (2011). Plan d'Investissement Communal de Ross-Béthio (PIC 2011-2016), pp. 73, Ross-Béthio.
- MALKINSON, M., BANET, C., WEISMAN, Y., POKAMUNSKI, S., KING, R. & DROUET, M. T. (2002). Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 392-397.
- MARTIN, J. E., PIERSON, T. C., HUBKA, S., RUCKER, S., GORDON, I. J., ENAMA, M., ANDREWS, C. A., XU, Q., DAVIS, B. S., NASON, M., FAY, M., KOUP, R. A., ROEDERER, M., BAILER, R. T., GOMEZ, P. L., MASCOLA, J. R., CHANG, G. J., NABEL, G. J. & GRAHAM, B. S. (2007). A West Nile virus DNA vaccine induces neutralizing antibody in healthy adults during a phase 1 clinical trial. *Journal of Infectious Diseases* **196**, 1732-1740.
- MATTAR, V. S., EDWARDS, E., LAGUADO, J., GONZÁLEZ, M., ALVAREZ, J. & KOMAR, N. (2005). West Nile virus infection in Colombian horses. *Emerging Infectious Diseases* **11**, 1497-1498.

- MCINTOSH, B. M., JUPP, P. G., DICKINSON, D. B., MCGILLIVRAY, G. M. & SWEETNAM, J. (1967). Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. I. Viral activity as revealed by infection of mosquitoes and sentinel fowls. *The South African journal of medical sciences* **32**, 1-14.
- MCLEAN, R. G., UBICO, S. R., BOURNE, D. & KOMAR, N. (2002). West Nile virus in livestock and wildlife. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **267**, 271–308.
- MELNICK, J. L., PAUL, J. R., RIORDAN, J. T., BARNETT, V. H., GOLDBLUM, N. & ZABIN, E. (1951). Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **77**, 661-665.
- MILLER, B. R., GODSEY, M. S., CRABTREE, M. B., SAVAGE, H. M., AL-MAZRAO, Y., AL-JEFFRI, M. H., ABDOON, A. M. M., AL-SEGHAYER, S. M., SHAHRANI, A. M. & KSIAZEK, T. G. (2002). Isolation and genetic characterization of Rift Valley fever from *Aedes vexans arabiensis*, Kingdom of Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis* **8**, 1492-1494.
- MILLER, B. R., NASCI, R. S., GODSEY, M. S., SAVAGE, H. M., LUTWAMA, J. J., LANCIOTTI, R. S. & PETERS, C. J. (2000). First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley Province, Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **62**, 240–246.
- MILLER, D. L., MAUEL, M. J., BALDWIN, C., BURTLE, G., INGRAM, D., HINES, M. E. N. & FRAZIER, K. S. (2003). West Nile virus in farmed alligators. *Emerging Infectious Diseases* **9**, 794-799.
- MONDET, B., DIAITE, A., FALL, A. G. & CHEVALIER, V. (2005a). Relations entre la pluviométrie et le risque de transmission virale par les moustiques : Cas du virus de la Rift Valley Fever (RVF) dans le Ferlo (Sénégal). *Environnement risque et Santé* **4**, 125-129.
- MONDET, B., DIAÏTE, A., NDIONE, J.-A., FALL, A. G., CHEVALIER, V., LANCELOT, R., NDIAYE, M. & PONÇON, N. (2005b). Rainfall patterns and population dynamics of *Aedes* (*Aedimorphus*) *vexans arabiensis* Patton, 1905 (Diptera Culicidae), a potential vector of Rift Valley Fever in Senegal. *Journal of Vector Ecology* **30**, 102-106.
- MORALES, M. A., BARRANDEGUY, M., FABBRI, C., GARCIA, J. B., VISSANI, A., TRONO, K., GUTIERREZ, G., PIGRETTI, S., MENCHACA, H., GARRIDO, N., TAYLOR, N., FERNANDEZ, F., LEVIS, S. & ENRÍA, D. (2006). West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 1559-1561.
- MOREL, G. (1968). *Contribution à la synécologie des oiseaux du Sahel sénégalais*. ORSTOM, Paris.
- MOREL, G. J. & MOREL, M.-Y. (1978). Recherches écologiques sur une savane sahélienne du Ferlo septentrional, Sénégal. Etude d'une communauté avienne. *Cahiers ORSTOM, série Biologie* **13**, 3-34.

- MOREL, G. J. & ROUX, F. (1966). Les migrateurs paléarctiques au Sénégal. II. Passereaux et synthèse générale. *La Terre et la Vie* **2**, 143-176.
- MORREY, J. D., SMEE, D. F., SIDWELL, R. W. & TSENG, C. (2002). Identification of active antiviral compounds against a New York isolate of West Nile virus. *Antiviral Res* **55**, 107-116.
- MORVAN, J., FONTENILLE, D., LEPERS, J. P. & COULANGES, P. (1990). Surveillance sérologiques de l'infection à virus West Nile dans un village des Hauts Plateaux à Madagascar. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* **70**, 55-63.
- MUNZEL, U. & HOTHORN, L. A. (2001). A Unified Approach to Simultaneous Rank Test Procedures in the Unbalanced One-way Layout. *Biometrical Journal* **43**, 553-569.
- MURGUE, B., MURRI, S., TRIKI, H., DEUBEL, V. & ZELLER, H. G. (2001a). West Nile in the Mediterranean basin: 1950–2000. *Annals of the New York Academy of Sciences* **951**, 117-126.
- MURGUE, B., MURRI, S., ZIENTARA, S., DURAND, B., DURAND, J. P. & ZELLER, H. (2001b). West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 692-696.
- MURGUE, B., ZELLER, H. & DEUBEL, V. (2002). The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **267**, 195-221.
- NASCI, R. S., SAVAGE, H. M., WHITE, D. J., MILLER, J. R., CROPP, B. C., GODSEY, M. S., KERST, A. J., BENNETT, P., GOTTFRIED, K. & LANCIOTTI, R. S. (2001). West Nile virus in overwintering Culex mosquitoes, New York City, 2000. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 742–744.
- NEMETH, N. M. & BOWEN, R. A. (2007). Dynamics of passive immunity to West Nile virus in domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **76**, 310–317.
- NOLAN, M. S., PODOLL, A. S., HAUSE, A. M., AKERS, K. M., FINKEL, K. W. & MURRAY, K. O. (2012). Prevalence of chronic kidney disease and progression of disease over time among patients enrolled in the Houston West Nile virus cohort. *Plos One* **7**, e40374.
- O'LEARY, D. R., MARFIN, A. A., MONTGOMERY, S. P., KIPP, A. M., LEHMAN, J. A., BIGGERSTAFF, B. J., ELKO, V. L., COLLINS, P. D., JONES, J. E. & CAMPBELL, G. L. (2004). The epidemic of West Nile virus in the United States, 2002. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **4**, 61-70.
- O'MALLEY, C. M. (1990a). *Aedes vexans* (Meigen) : An old foe. *Proc. N. J. Mosquito Control Assoc*, 90-95.
- O'MALLEY, C. M. (1990b). *Aedes vexans* (Meigen) an old foe. In *Proceedings of seventy-seventh annual meeting*, vol. 77, pp. 90-95. New Jersey Mosquito Control Association.

- PAUVOLID-CORRÊA, A., MORALES, M. A., LEVIS, S., FIGUEIREDO, L. T., COUTO-LIMA, D., CAMPOS, Z., NOGUEIRA, M. F., DA SILVA, E. E., NOGUEIRA, R. M. & SCHATZMAYR, H. G. (2011). Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **106**, 467-474.
- PETERSON, L. R. & ROEHRIG, J. T. (2001). West Nile virus: A Re-emerging global pathogen. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 611-614.
- PHILIP, C. B. & SMADEL, J. E. (1943). Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. *Proc Soc Exp Biol Med* **48**, 537-548.
- PIN-DIOP, R. (2006). Spatialisation du risque de transmission de la Fièvre de la Vallée du Rift en milieu agropastoral sahélien du Sénégal septentrional. In *Géographie: espace, développement et santé*, pp. 228. Université d'Orléans, Orléans.
- PLANITZER, C. B., MODROF, J., YU, M. Y. & KREIL, T. R. (2009). West Nile virus infection in plasma of blood and plasma donors, United States. *Emerging Infectious Diseases* **15**, 1668-1670.
- PLATT, K. B., TIAWSIRISUP, S., TUCKER, B. J., BLITVICH, B. J., BARTHOLOMAY, L. C. & ROWLEY, W. A. (2008). The Potential of Small Mammals to Contribute to the Ecology and Epidemiology of West Nile Virus. In *FAVA -OIE Joint Symposium on Emerging Diseases*. ed. PROCEEDINGS, T. T. C. O. F., pp. 61-62, Bangkok, Thailand.
- POURRUT, X., NKOGHE, D., PAWESKA, J. & LEROY, E. (2010). First serological evidence of West Nile virus in human rural populations of Gabon. *Virology Journal* **7**.
- QUIRIN, R., SALAS, M., ZIENTARA, S., ZELLER, H., LABIE, J., MURRI, S., LEFRANÇOIS, T., PETITCLERC, M. & MARTINEZ, D. (2004). West Nile virus, Guadeloupe. *Emerging Infectious Diseases* **10**.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. (2010). R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- RAPPOLE, J., DERRICKSON, S. & HUBALEK, Z. (2000). Migratory birds and spread of West Nile virus in the western hemisphere. *Emerging Infectious Diseases* **6**, 319-328.
- RAYNAUT, C., GREGOIRE, E., JANIN, P., KOECHLIN, J. & LAVILLE DELVIGNE, P. (1997). *Sahels: diversité et dynamiques des relations sociétés-nature*. Karthala, Paris.
- REISEN, W. K., BRAULT, A. C., MARTINEZ, V. M., FANG, Y., SIMMONS, K., GARCIA, S., OMI-OLSEN, E. & LANE, R. S. (2007). Ability of transstadially infected *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) to transmit West Nile virus to song sparrows or western fence lizards. *Journal of Medical Entomology* **44**, 320-327.
- REISEN, W. K., FANG, Y., LOTHROP, H. D., MARTINEZ, V. M., WILSON, J., OCONNOR, P., CARNEY, R., CAHOON-YOUNG, B., SHAFII, M. & BRAULT, A. (2006). Overwintering of West Nile virus in Southern California. *Journal of Medical Entomology* **43**, 344-355.

- REISEN, W. K., LOTHROP, H. D., CHILES, R. E., MADON, M. B., COSSEN, C., WOODS, L., HUSTED, S., KRAMER, V. & EDMAN, J. D. (2004). West Nile Virus in California. *Emerging Infectious Diseases* **10**, 1369-1378.
- SARDELIS, M. R., TURELL, M. J., DOHM, D. J. & O'GUINN, M. L. (2001). Vector competence of selected North American Culex and Coquillettidia mosquitoes for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* **7**, 1018-1022.
- SEMENOV, B. F., CHUNIKHIN, S. P., KARMYSHEVA, V. Y. & TAKOVLEVA, N. I. (1973). studies of chronic arbovirus infections in birds. 1. Experiments with West Nile, Sindbis, Bhanja and SFS virus (in Russian). *Vestnik Akademii Medicinskikh NaukSSSR (Moskva)* **2**, 79-83.
- SMITHBURN, K. C., HUGHES, T. P., BURKE, A. W. & PAUL, J. H. (1940). A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **20**, 471-492.
- SMITHBURN, K. C., TAYLOR, R. M., RIZK, F. & KADER, A. (1954). Immunity to certain arthropod-borne viruses among indigenous residents of Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **3**, 9-18.
- SNOOK, C. S., HYMAN, S. S., DEL PIERO, F., PALMER, J. E., OSTLUND, E. N., BARR, B. S., DESROCHERS, A. M. & REILLY, L. K. (2001). West Nile virus encephalomyelitis in eight horses. *J Am Vet Med Assoc* **218**, 1576-1579.
- STEELE, K. E., LINN, M. J., SCHOEPP, R. J., KOMAR, N., GEISBERT, T. W., MANDUCA, R. M., CALLE, P. P., RAPHAEL, B. L., CLIPPINGER, T. L., LARSEN, T., SMITH, J., LANCIOTTI, R. S., PANELLA, N. A. & MCNAMARA, T. S. (2000). Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Veterinary Pathology* **37**, 208-224.
- STRICKMAN, D. (1980). Stimuli affecting selection of oviposition site by Aedes vexans (Diptera Culicidae): moisture. *Mosquito News* **40**, 236-245.
- TAYLOR, R. M., WORK, T. H., HURLBUT, H. S. & RIZK, F. (1956). A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **5**, 579-620.
- TIAWSIRISUP, S., KINLEY, J. R., TUCKER, B. J., EVANS, R. B., ROWLEY, W. A. & PLATT, K. B. (2008). Vector competence of Aedes vexans (Diptera: Culicidae) for West Nile virus and potential as an enzootic vector. *Journal of Medical Entomology* **45**, 452-457.
- TRAORE-LAMIZANA, M., FONTENILLE, D., DIALLO, M., BA, Y., ZELLER, H. G., MONDO, M., ADAM, F., THONNON, J. & MAIGA, A. (2001). Arbovirus surveillance from 1990 to 1995 in the Barkedji area (Ferlo) of Senegal, a possible natural focus of Rift Valley fever virus. *Journal of Medical Entomology* **38**, 480-492.
- TRAORE-LAMIZANA, M., ZELLER, H. G., MONDO, M., HERVY, J. P., ADAM, F. & DIGOUTTE, J. P. (1994). Isolation of West Nile and Bagaza viruses from mosquito (Diptera Culicidae) in central Senegal (Ferlo). *Journal of Medical Entomology* **31**, 934-938.

- TRIKI, H., MURRI, S., LE GUENNO, B., BAHRI, O., HILI, K., SIDHOM, M. & DELLAGI, K. (2001). Méningo-encéphalite à arbovirus West Nile en Tunisie. *Medicine Tropicale* **61**, 487-490.
- TSAL, T. F., POPOVICI, F., CERNESCU, C., CAMPBELL, G. L. & NEDELCU, N. I. (1998). West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet* **352**, 767-771.
- TURELL, M. J., DOHM, D. J., SARDELIS, M. R., O'GUINN, M. L., ANDREADIS, T. G. & BLOW, J. A. (2005). An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *Journal of Medical Entomology* **42**, 57-62.
- TURELL, M. J., O'GUINN, M. & OLIVER, J. (2000). Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **62**, 413-414.
- TURELL, M. J., O'GUINN, M. L., DOHM, D. J. & JONES, J. W. (2001). Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *Journal of Medical Entomology* **38**, 130-134.
- TYLER, J. W., TURNQUIST, S. E., DAVID, A. T., KLEIBOEKER, S. B. & MIDDLETON, J. R. (2003). West Nile virus encephalomyelitis in a sheep. *J Vet Intern Med* **17**.
- ULLOA, A., LANGEVIN, S. A., MENDEZ-SANCHEZ, J. D., ARREDONDO-JIMENEZ, J. I., RAETZ, J. L., POWERS, A. M., VILLARREAL-TREVIÑO, C., GUBLER, D. J. & KOMAR, N. (2003). Serologic survey of domestic animals for zoonotic arbovirus infections in the Lacandón Forest region of Chiapas, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **3**, 3-9.
- UNLU, I., ROY, A. F., YATES, M., GARRETT, D., BELL, H., HARDEN, T. & FOIL, L. D. (2009). Evaluation of surveillance methods for detection of West Nile virus activity in East Baton Rouge Parish, Louisiana, 2004-2006. *Journal of the American Mosquito Control Association* **25**, 126-133.
- VAN DER MEULEN, K. M., PENZAERT, M. B. & NAUWYNCK, H. J. (2005). West Nile virus in the vertebrate world. *Archives of Virology* **150**, 637-657.
- VEKSLER, A., EIDSON, M. & ZURBENKO, I. (2009). Assessment of methods for prediction of human West Nile virus (WNV) disease from WNV-infected dead birds. *Emerging Themes in Epidemiology* **6**.
- VENTER, M., STEYL, J., HUMAN, S., WEYER, J., ZAAYMAN, D., BLUMBERG, L., LEMAN, P. A., PAWESKA, J. & SWANEPOEL, R. (2010). Transmission of West Nile virus during horse autopsy. *Emerging Infectious Diseases* **16**, 573-575.
- VENTER, M. & SWANEPOEL, R. (2010). West Nile virus lineage 2 as a cause of zoonotic neurological disease in humans and horses in southern Africa. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **10**, 659-664.

- VERMEIL, C., LAVILLAUREIX, J. & REEB, E. (1960). Sur la conservation et la transmission du virus West Nile par des arthropodes. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **53**, 273-279.
- WEICKER, M. (1993). *Nomades et sédentaires au Sénégal*. ENDA, Dakar.
- WHITMAN, L. & AITKEN, T. H. (1960). Potentiality of *Ornithodoros moubata* Murray (Acarina, Argasidae) as a reservoir vector of West Nile Virus. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **54**, 192–204.
- WORK, T. H., HURLBUT, H. S. & TAYLOR, R. M. (1953). Isolation of West Nile virus from hooded crow and rock pigeon in the Nile delta. *Proc Soc Exp Biol Med* **84**, 719-722.
- WORK, T. H., HURLBUT, H. S. & TAYLOR, R. M. (1955). Indigenous wild birds of the Nile Delta as potential West Nile virus circulating reservoirs. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **4**, 872–888.
- YAEGER, M., YOON, K. J., SCHWARTZ, K. & BERKLAND, L. (2004). West Nile virus meningoencephalitis in a Suri alpaca and Suffolk ewe. *J Vet Diagn Invest* **16**, 64-66.
- ZAAYMAN, D. & VENTER, M. (2012). West Nile virus neurologic disease in humans, South Africa, September 2008–May 2009. *Emerging Infectious Diseases* **18**, 2051-2054.
- ZELLER, H. G. & SCHUFFENECKER, I. (2004). West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **23**, 147-156.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau : Arthropodes trouvés infectés par le virus de la West Nile sur le terrain (en gras espèces dont la compétence vectorielle est démontrée au laboratoire) d'après (Hubalek & Halouzka, 1999) modifié.

Espèce	Lieu d'isolement
Moustiques	
<i>Culex antennatus</i>	Egypte, Madagascar, Sénégal
<i>Culex cinereus</i>	USA
<i>Culex decens gr.</i>	Madagascar
<i>Culex erythrorhox</i>	USA
<i>Culex ethiopicus</i>	Ethiopie, Sénégal
<i>Culex guiarti</i>	Côte d'Ivoire
<i>Culex modestus</i>	France, Russie
<i>Culex neavei</i>	Sénégal, Afrique du Sud
<i>Culex nigripalpus</i>	USA
<i>Culex nigripes</i>	République Centre Africaine
<i>Culex perexiguus</i>	Israel
<i>Culex perfuscus gr.</i>	République Centre Africaine, Sénégal
<i>Culex pipiens</i>	Afrique du Sud, Egypte, Israel, Roumanie, République tchèque, Bulgarie, USA,
<i>Culex poicilipes</i>	Sénégal
<i>Culex pruina</i>	République Centre Africaine
<i>Culex quinquefasciatus</i>	Inde, Pakistan, Madagascar, USA
<i>Culex restuans</i>	USA
<i>Culex salinarius</i>	USA
<i>Culex scottii</i>	Madagascar
<i>Culex stigmatosoma</i>	USA
<i>Culex tarsalis</i>	USA
<i>Culex theileri</i>	Afrique du Sud
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	Inde, Pakistan, Madagascar, Sénégal
<i>Culex univittatus</i>	Egypte, Israel, Afrique du Sud, Madagascar, Kenya
<i>Culex vishnui gr.</i>	Inde, Pakistan
<i>Culex weschei</i>	République Centre Africaine
<i>Culex sp.</i>	Egypte, Algérie, République Centre Africaine, USA
<i>Coquillettidiometallica</i>	Ouganda
<i>Coquillettidiomicroannulata</i>	Afrique du Sud
<i>Ochlerotatuscantator</i>	USA
<i>Ochlerotatusdorsalis</i>	USA
<i>Ochlerotatusjaponicus</i>	USA
<i>Ochlerotatussollicitans</i>	USA
<i>Ochlerotatusrivittatus</i>	USA
<i>Ochlerotatusriseratus</i>	USA
<i>Coquillettidiarichiardii</i>	Sud Russie, Bulgarie

<i>Mansoniauniformis</i>	Ethiopie, Sénégal
<i>Mansoniaafricana</i>	Sénégal
<i>Aedesegypti</i>	Madagascar
<i>Aedes africanus</i>	République Centre Africaine
<i>Aedesalbocephalus</i>	Madagascar
<i>Aedesalbopictus</i>	USA
<i>Aedesalbothorax</i>	Kenya
<i>Aedescantans</i>	Slovaquie, Ukraine, Bulgarie
<i>Aedescaspus</i>	Ukraine
<i>Aedescircumluteolus</i>	South Africa, Madagascar
<i>Aedesdalzielii</i>	Sénégal
<i>Aedesexrucians</i>	Ukraine
<i>Aedesjuppi+caballus</i>	Afrique du Sud
<i>Aedesmadagascarensis</i>	Madagascar
<i>Aedesvexans</i>	Sénégal, Russie, USA
<i>Aedessp</i>	USA
<i>Anophelesbrunnipes</i>	Madagascar
<i>Anophelescoustani</i>	Israel
<i>Anophelesmaculipalpis</i>	Madagascar
<i>Anophelesmaculipennis</i>	Portugal, Ukraine
<i>Anophelespunctipennis</i>	USA
<i>Anophelessubpictus</i>	Inde
<i>Anophelessp.</i>	Madagascar
<i>Mimomyiahispida</i>	Sénégal
<i>Mimomyialacustris</i>	Sénégal
<i>Mimomyiasplendens</i>	Sénégal
<i>Mimomyiasp.</i>	Sénégal
<i>Aedeomyiaafricana</i>	Sénégal
<i>Psorophoraferox</i>	USA
Tiques molles	
<i>Argas hermanni</i>	Egypte
<i>Ornithodoroscapensis</i>	Azerbaïdjan
Tiques dures	
<i>Hyalommamarginatum</i>	Astrakhan, Azerbaïdjan
<i>Hyalommadetritum</i>	Turkmenistan
<i>Rhipicephalusturanicus</i>	Azerbaïdjan
<i>Rhipicephalumuhsamae</i>	République Centre Africaine
<i>Amblyommavariegatum</i>	République Centre Africaine
<i>Dermacentormarginatus</i>	Moldavie

Nom et prénoms du Candidat : FALL Assane Guèye

Titre de la thèse : Ecologie des arbovirus au Sénégal : exemple du virus de la fièvre West Nile dans le Delta du fleuve Sénégal et le Ferlo

Date et lieu de soutenance : 06 avril 2013, Amphi VII, FST - UCAD

Jury : Président : Mady Ndiaye, Professeur, FST/UCAD, Dakar
Membres : Mawlouth Diallo, Chercheur, Institut Pasteur de Dakar
Thierry Baldet, Chercheur, CIRAD, Montpellier
Babacar Faye, Professeur Agrégé, FMPOS/UCAD, Dakar
Momar Talla Seck, Chercheur, ISRA/LNERV, Dakar
Ousmane Faye, Professeur, FST/UCAD, Dakar
Amadou Diaïté, Chercheur, ISRA/LNERV, Dakar/PAM, Sénégal

Résumé :

La fièvre West Nile est une arbovirose émergente endémique au Sénégal, surtout dans la région du fleuve Sénégal et dans le Ferlo. Les oiseaux sont les principaux hôtes-réservoirs et assurent la diffusion du virus des régions infectées vers des régions indemnes à travers les flux migratoires d'oiseaux. La transmission du virus d'un hôte infecté à un hôte sain se fait par le biais de vecteurs qui sont généralement des moustiques. Au Sénégal, bien que plusieurs études aient été faites sur la maladie, beaucoup de questions restent à être élucidées dans les cycles de transmission complexes qui dépendent largement des conditions climatiques et environnementales locales. La région du Ferlo et le Delta du fleuve Sénégal sont deux régions aux faciès écologiques différents. La région agropastorale du Ferlo est constituée de vallées fossiles inondables en saison des pluies et forme des mares temporaires qui disparaissent progressivement avec l'installation de la saison sèche. Tandis que le Delta du fleuve est constitué de vastes étendues aménagées pour la riziculture irriguée dont la principale source en eau est le fleuve Sénégal. Dans ces deux régions aux contextes géographiques et environnementaux différents, l'exploitation des terres par les populations humaines et animales est fortement liée à l'eau qui malheureusement permet le développement de vecteurs d'arbovirus comme ceux de la West Nile. La transmission du virus West Nile est complexe dans ces régions, car elle implique plusieurs intervenants dont des vecteurs (*Aedes* et/ou *Culex*) d'écologies différentes, des hôtes résidents ou migrants autour d'un environnement favorable (mare temporaire, fleuve). Il en est de même de l'endémisation du virus car les réservoirs sont peu étudiés. Afin de mieux comprendre l'écologie du virus de la West Nile dans ces écosystèmes, nous avons effectué des enquêtes entomologiques par différentes techniques (piège lumineux avec CO₂, piège à appât poulet, piège à appât pigeon, piège à appât cheval, aspiration) et des enquêtes sérologiques sur les poulets sentinelles pendant la période à fort risque de transmission. Nous avons aussi, à partir d'observations faites sur le terrain, prélevé des échantillons de sol par raclage au niveau de potentiels gîtes de repos et de ponte du moustique *Aedes vexans arabiensis* que nous avons comparés avec des expériences effectuées au laboratoire. Les résultats obtenus sont assez encourageants et contribuent à une meilleure connaissance de l'écologie de ce virus dans ces écosystèmes et par conséquent de l'épidémiologie de la maladie. L'intérêt de ce travail est de mettre en évidence le rôle de chacun des acteurs étudiés impliqués dans le cycle épidémiologique de la maladie et les interactions qui peuvent exister entre ces différents intervenants et le milieu. Le schéma de surveillance que nous avons proposé pourra être utilisé pour la détection précoce de la circulation du virus au Sénégal dans le cadre d'un système de surveillance de la West Nile. Cependant, les efforts de recherche doivent être poursuivis pour mieux cerner son épidémiologie et développer des méthodes de prévention et de lutte efficaces.

Mots clefs : écologie, virus, fièvre West Nile, moustiques vecteurs, oiseaux migrants, poulets sentinelles, Ross-Bethio, Barkédji, Sénégal